

**Ökophysiologische und phytopathologische Untersuchungen
an *Phytophthora alni* - infizierten Schwarzerlen
(*Alnus glutinosa* [L.] Gaertn.)
unter besonderer Berücksichtigung der Ausbreitungsdynamik des
Pathogens im Rindengewebe**

Inaugural-Dissertation

zur
Erlangung des Doktorgrades
Dr. rer. nat.

Fakultät
Biologie und Geografie

an der
Universität Duisburg-Essen

vorgelegt von
Janne Mombour
aus Duisburg

Oktober 2009

Die der vorliegenden Arbeit zugrunde liegenden Experimente wurden am Institut für Angewandte Botanik der Universität Duisburg-Essen oder an einer anderen gleichwertigen Einrichtung durchgeführt.

1. Gutachter: Prof. Dr. H. Pfanz

2. Gutachter: Prof. Dr. W. Oßwald

Vorsitzender des Prüfungsausschusses: Prof. Dr. P. Bayer

Tag der mündlichen Prüfung: 18.02.2010

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	10
1.1	„Pflanzenzerstörer“: Die Gattung <i>Phytophthora</i>	10
1.2	Neue Wirtsspezifität als Ergebnis von Hybridisierung: <i>Phytophthora alni</i> ..	13
1.3	Erlenstamm- und Wurzelfäule	17
1.4	<i>Alnus glutinosa</i> [L.] Gaertn. als spezifischer Wirt und begünstigende Faktoren.	19
1.5	Die Rindenphotosynthese	22
1.6	Forschungsstand	23
2	Zielsetzung	25
3	Material und Methoden	27
3.1	Isolat ALN 405.....	27
3.2	Saatmaterial und Bodeninokulum	28
3.3	Probenmaterial für Stamminfektionen an Topferlen	28
3.4	Probenmaterial adulter Schwarzerlen und Freilanduntersuchungen	29
3.5	Grundlegende Messprinzipien und Analysemethoden.....	30
3.5.1	Chlorophyllfluoreszenzanalyse.....	30
3.5.2	CO ₂ /H ₂ O-Gaswechselfmessungen	35
3.5.3	Bestimmung von Chlorophyllgehalten.....	38
3.5.4	Transmissionsmessungen an Zweigen und Stämmen.....	41
3.6	Versuchsreihen	41
3.6.1	Zapfen - Anatomische und physiologische Aspekte	41
3.6.1.1	Gewichts- und Größenbestimmung.....	41
3.6.1.2	Pigmentgehalt, aktueller Wassergehalt, Chlorophyllfluoreszenz – physiologische Aspekte	42
3.6.2	Kätzchen - Anatomische und physiologische Aspekte.....	42
3.6.3	Gewichts- und Größenbestimmung von Samen	43
3.6.4	Vitalitätsprüfung von Samen optisch gesunder und <i>P. alni</i> -infizierter Erlen	43
3.6.5	Infektionsversuche über Bodensubstrat	45
3.6.6	Infektionsversuche an getopften Erlen.....	47
3.6.6.1	Biometrische Daten	47
3.6.6.2	Temperatur der Rindenoberfläche.....	48
3.6.6.3	Ausbreitung der Läsionen	48
3.6.6.4	Chlorophyllfluoreszenzanalytische Untersuchungen im nahen Infektionsbereich.....	48
3.6.6.5	Gaswechselfmessungen an der Stammbasis.....	49
3.6.7	Untersuchungen an adulten Erlen (Freiland)	50
3.6.7.1	Zweiggaswechsel	50
3.6.7.2	Infektionsdynamik im Freiland	51
3.6.7.3	Infektion und Gewebedestruktion	53
3.7	Statistische Auswertung	55
4	Ergebnisse und Diskussion.....	56
4.1	Blüten- und Fruchtstände	56
4.1.1	Gewichte und Größen von Kätzchen	56
4.1.2	Gewichte und Größen von Zapfen.....	58
4.1.3	Blüten- und Fruchtstände - Physiologische Aspekte	63
4.1.3.1	Zapfen	65
4.1.3.2	Kätzchen	67
4.1.4	Übergreifende Überlegungen	68
4.2	Keimungsverhalten und Keimlingsvitalität	69
4.2.1	Samen – Biometrische Daten.....	70

4.2.2	Aussaat von Samen optisch gesunder und <i>Phytophthora alni</i> -infizierter Erlen	72
4.2.3	Infektionsversuche über Bodensubstrat	82
4.2.4	Vergleichende Überlegungen	89
4.3	Infektionsversuche an getopften Jungerlen	91
4.3.1	Biometrische Daten	92
4.3.2	Ausbreitungsdynamik der Läsionen	93
4.3.3	Chlorophyllfluoreszenzanalytische Untersuchungen im nahen Infektionsbereich	97
4.3.4	Gaswechselfmessungen an der Stammbasis.....	113
4.3.5	Übergreifende Überlegungen	118
4.4	Untersuchungen an adulten Erlen (Freiland)	119
4.4.1	Zweige	120
4.4.1.1	Peridermtransmission bei 0- und 1-jährigen Zweigen	120
4.4.1.2	Pigmentgehalte in Erlen zweigen.....	122
4.4.1.3	Gaswechsel infizierter und gesunder Zweige	127
4.4.2	Stamm	135
4.4.2.1	Infektionsentwicklung.....	136
4.4.2.2	Auswirkungen einer P. alni-Infektion auf Bast und Holz	152
4.4.3	Übergreifende Überlegungen	160
5	Weitere Überlegungen.....	163
6	Zusammenfassung und Ausblick	165
	Literaturverzeichnis	171

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Infektions- und Lebenszyklus von <i>Phytophthora alni</i> (Schema). Angedeutet ist auch der sexuelle Lebenszyklus, der aufgrund der keimungsunfähigen Oosporen aber nicht stattfindet	17
Abb. 2: Rötlich-braune Exsudate (Teerflecken) und eine Verlichtung der Krone bis zur völligen Blattlosigkeit sind typische Symptome für einen fortgeschrittenen Krankheitsverlauf im Zuge einer Infektion mit <i>Phytophthora alni</i> (Standort: Dülmen - Karthaus).....	18
Abb. 3: Entwicklungszyklus von <i>Alnus glutinosa</i> vor dem Hintergrund von <i>P. alni</i> -Infektionen	26
Abb. 4: Verbreitungsgebiet von <i>Phytophthora alni</i> via Wasserweg (Mühlenbach) in Dülmen – Karthaus; markiert sind das Beprobungsgebiet (Doppelpfeil und gestrichelte Linie) sowie der Standort der Schwarzerlen zur Überprüfung der Infektionsentwicklung (x) und der Gewebedestruktion (+) (ursprüngliche Quelle der Satellitenbilder, zu eigenen Zwecken ergänzt): http://maps.google.de/ vom 21.05.09)	30
Abb. 5: PAM-Fluorometer Heinz Walz GmbH, Effeltrich (Quelle: Willert et al. 1995).....	34
Abb. 6: Beispiel einer Infektion an der Stammbasis, Absorptionsimage (Abs) mit Transekt durch den Inokulations- und Infektionsbereich (T), Quantifizierung der Absorptionswerte entlang des Transekts sowie Nahinfrarotaufnahme (NIR) zur Visualisierung des Messbereichs.....	49
Abb. 7: Stammdiagramm der gefällten Schwarzerle mit der Nummerierung der jeweiligen Stammscheiben.....	54
Abb. 8: Frisch- und Trockengewichte in g (FG und TG) von Kätzchen nicht infizierter Erlen (grau, n = 411) und <i>Phytophthora</i> -infizierter Erlen (schwarz, n = 408); dargestellt sind MW \pm SE	56
Abb. 9: Längen und Durchmesser von Kätzchen optisch gesunder Erlen (grau, n = 411) und <i>Phytophthora</i> - infizierter Erlen (schwarz, n = 408) in mm; dargestellt sind MW \pm SE	57
Abb. 10: Trockengewichte in g von Zapfen optisch gesunder Erlen (grau, n = 346) und von <i>Phytophthora</i> -infizierten Erlen (schwarz, n = 499); dargestellt sind MW \pm SD.....	58
Abb. 11: Gaußsche Verteilung der Trockengewichte in g von Zapfen optisch gesunder Erlen (weiß, n = 346) und von <i>Phytophthora</i> -infizierten Erlen (schwarz, n = 499)	59
Abb. 12: Optischer Vergleich von Zapfen gesunder und <i>Phytophthora</i> -infizierter Schwarzerlen.....	60
Abb. 13: Längen und Durchmesser von Zapfen optisch gesunder Erlen (grau, n = 343) und <i>Phytophthora</i> -infizierter Erlen (schwarz, n = 500) in mm; dargestellt sind MW \pm SD.....	61
Abb. 14: Frischgewichte (FG) von grünen Zapfen optisch gesunder (grau, n = 78) und <i>Phytophthora</i> -infizierter Erlen (schwarz, n = 81) sowie die zugehörigen Trockengewichte (TG) in g; dargestellt sind MW \pm SD.....	62
Abb. 15: Optischer Vergleich von Zapfen symptomfreier und <i>P. alni</i> -infizierter Erlen.....	64
Abb. 16: Gesamtchlorophyllgehalt (in mg g ⁻¹ FG) von Zapfen (n = jeweils 22) und Kätzchen (n = jeweils 15) symptomfreier Erlen (grau) und infizierter Erlen (schwarz); dargestellt sind MW, SE und Signifikanzniveaus.....	64
Abb. 17: Vergleich relativer Elektronentransportraten in Abhängigkeit zur Lichtintensität (PAR), zwischen (a) Zapfen gesunder Erlen (weiß; n = 20) und infizierter Erlen (schwarz; n = 24) und zwischen (b) Kätzchen gesunder Erlen (grau = 10) und infizierter Erlen (schwarz; n = 10); dargestellt sind MW und SD.....	65
Abb. 18: Optischer Vergleich von Samen nicht infizierter und <i>Phytophthora</i> -infizierter Schwarzerlen.....	70
Abb. 19: (a) Gewichte von Samen in mg von Saatgut optisch gesunder Erlen (grau, n = 1003) und von <i>Phytophthora</i> -infizierten Erlen (schwarz, n = 1057) und (b) Samenbreiten in mm von Saatgut optisch gesunder Erlen (grau, n = 198) und von <i>Phytophthora</i> -infizierten Erlen (schwarz, n = 200); dargestellt sind MW \pm SD sowie Signifikanzniveaus zwischen beiden Gruppen.....	71
Abb. 20: Keimung und quantitative Entwicklung von Samen optisch gesunder (grau, n = 500) und <i>Phytophthora alni</i> -infizierter Schwarzerlen (schwarz, n = 500).....	73

Abb. 21: Keimprozent von Samen nicht infizierter (grau, n = 500) und <i>Phytophthora alni</i> -infizierter Schwarzerlen (schwarz, n = 500)	73
Abb. 22: Sprosshöhe von Keimlingen aus Samen nicht infizierter Erlen (grau, n = 63) sowie aus Samen <i>Phytophthora</i> -infizierter Erlen (schwarz, n = 44) 8 Wochen nach der Aussaat; MW \pm SD sowie Signifikanzniveau sind dargestellt	75
Abb. 23: Größenverteilung von Keimlingen aus Samen optisch gesunder Erlen (weiß; n = 63) sowie aus Samen <i>Phytophthora</i> -infizierter Erlen (schwarz; n = 44)	76
Abb. 24: Vergleich relativer Elektronentransportraten und effektiver Quantenausbeuten (Yield) in Abhängigkeit zur Lichtintensität (PAR), gemessen an Blättern von Keimlingen aus Saatgut gesunder Erlen (weiß; n = je 10) und infizierter Erlen (schwarz; n = je 10) 10 Wochen nach der Aussaat (a und a') und 17 Wochen nach der Aussaat (b und b'); dargestellt sind MW und SE	78
Abb. 25: Vergleich von Pigmenten (Chl a, Chl b, Carotinoide) in mg pro Fläche, extrahiert aus Blättern von Keimlingen aus nicht infiziertem Saatgut (grau; n = 10) und aus infizierter Saatquelle (schwarz; n = 10) 10 und 17 Wochen n. A. (a und b), dargestellt sind MW, SE und Signifikanzniveaus zwischen den beiden Gruppen	80
Abb. 26: Vergleich des Keimprozents von Samen, ausgesät auf Kontrollsubstrat (grau, n = 250) und Samen, ausgesät auf <i>Phytophthora alni</i> -inokuliertem Bodensubstrat (schwarz, n = 250)	83
Abb. 27: Vergleich von Pigmenten (Chl a, Chl b, Carotinoide) in mg pro m ² Fläche, extrahiert aus Blättern von Kontrollen (Keimlinge auf Kontrollsubstrat; grau; n = 15) und von <i>P. alni</i> -inokulierten Keimlingen (schwarz; n = 13) 9 Wochen nach der Aussaat; dargestellt sind MW, SE und Signifikanzniveaus zwischen den beiden Gruppen	87
Abb. 28: Vergleich relativer Elektronentransportraten (a) und effektiver Quantenausbeuten (a') in Abhängigkeit zur Lichtintensität (PAR), gemessen an Blättern von Kontrollen (Keimlingen auf Kontrollsubstrat; weiß; n = 15) und von <i>P. alni</i> -inokulierten Keimlingen (schwarz; n = 13) 9 Wochen nach der Aussaat; dargestellt sind MW und SE	88
Abb. 29: Vergleich der vertikalen und axialen Entwicklungsdynamik von Infektionszungen sechs ausgewählter Erlen-Topfpflanzen (a bis f), dargestellt anhand der Zuwächse in cm, die zu 6 aufeinander folgenden Terminen gemessen wurden (gemessen wurde vom jeweils äußeren Rand der Inokulationsstelle bis zum Ende der Läsion in axialer und vertikaler Richtung)	95
Abb. 30: (siehe vorige Seite) Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (Fv/Fm) im nahen Umfeld von <i>P. alni</i> -Infektionen an 2,5-jährigen Erlen (n = 10); gemessen wurde unterhalb und oberhalb des Inokulationsbereiches (Zentrum) in 0,5 cm - Abständen über einen Zeitraum von 3 Monaten; dargestellt sind MW und SE sowie signifikante Unterschiede zwischen den zu Beginn (Mai) und den am Ende (Juli) erhobenen Fv/Fm - Werten	99
Abb. 31: Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (Fv/Fm) im nahen Umfeld einer Inokulation mit Kontrollagar an 2,5-jährigen Erlen (n = 10); gemessen wurde unterhalb und oberhalb des Inokulationsbereiches (Zentrum) in 0,5 cm - Abständen über einen Zeitraum von 3 Monaten; dargestellt sind MW und SE sowie signifikante Unterschiede zwischen den zu Beginn (Mai) und den am Ende (Juli) erhobenen Fv/Fm - Werten	100
Abb. 32: Prozentuale Darstellung der Veränderung maximaler Quantenausbeuten (Fv/Fm) entlang von Infektionszungen (n = 10) in einem Zeitraum von 3 Monaten; dargestellt sind entsprechend die Quantenausbeuten in % nach Ablauf der 3 Monate mit der Bezugsgröße der Erstmessungen im Mai (= 100%); (/ *: die Veränderung im Zentrum wurde aufgrund irreführender Werte nicht dargestellt)	104
Abb. 33: Vergleich der Absorptionsentwicklung (1a – 3a) mit der Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (Fv/Fm) im nahen Umfeld einer Inokulation mit Kontrollagarplugs (1b – 3b) und der entsprechenden Nahinfrarotaufnahme (1c – 3c) einer Kontrolllerle über einen Zeitraum von 3 Monaten (1 – 3); die gestrichelte Markierung in 1a – 3a grenzt den Inokulationsbereich ein	105
Abb. 34: Vergleich der Absorptionsentwicklung (1a – 3a) mit der Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (Fv/Fm) im nahen Umfeld einer <i>P. alni</i> -Infektion (1b – 3b) und	

der entsprechenden Nahinfrarotaufnahme (1c – 3c) eines Einzelbaumes (Beispiel A) über einen Zeitraum von drei Monaten (1 – 3); die gestrichelte Markierung in 1a – 3a grenzt den Inokulationsbereich ein	107
Abb. 35: Vergleich der Absorptionsentwicklung (1a – 3a) mit der Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (FV/Fm) im nahen Umfeld einer <i>P. alni</i> -Infektion (1b – 3b) und der entsprechenden Nahinfrarotaufnahme (1c – 3c) eines Einzelbaumes (Beispiel B) über einen Zeitraum von drei Monaten (1 – 3); die gestrichelte Markierung in 1a – 3a grenzt den Inokulationsbereich ein	110
Abb. 36: Vergleich der Absorptionsentwicklung (1a – 3a) mit der Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (FV/Fm) im nahen Umfeld einer <i>P. alni</i> -Infektion (1b – 3b) und der entsprechenden Nahinfrarotaufnahme (1c – 3c) eines Einzelbaumes (Beispiel C) über einen Zeitraum von drei Monaten (1 – 3); die gestrichelte Markierung in 1a – 3a grenzt den Inokulationsbereich ein	112
Abb. 37: Entwicklung der Dunkelatmung (R_d) in $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, gemessen an der Stammbasis von Kontrollerlen (weiß; $n = 8$) und <i>P. alni</i> -infizierten Erlen (schwarz; $n = 8$) über die Dauer von 3,5 Monaten; parallel dazu ist der monatliche Zuwachs der Durchmesser in mm von Mai bis Juli abgebildet (grün = Kontrolle; rot = infiziert); dargestellt sind MW, SE sowie jeweils Signifikanzniveaus zwischen Kontrollen und infizierten Erlen bezüglich des Gaswechsels (schwarz) und der Zuwächse (rot) ...	114
Abb. 38: Peridermtransmission bei 0- und 1-jährigen Zweigen optisch gesunder Erlen (grau; $n = 8$ und $n = 9$) sowie bei entsprechenden Zweigen <i>Phytophthora</i> -infizierter Erlen (schwarz; $n = 10$ und $n = 9$); dargestellt sind MW, SD und Signifikanzniveaus	120
Abb. 39: Vergleich von Pigmenten (Chl a, Chl b), extrahiert aus Rinde (a; in mg m^{-2}) und Holz (b; in $\mu\text{g pro g FG}$) von 0-jährigen und 1-jährigen Kontrollzweigen (grau; $n =$ jeweils 13) und 0-jährigen und 1-jährigen Zweigen <i>P. alni</i> -infizierter Erlen (schwarz; $n =$ jeweils 13); dargestellt sind MW, SD sowie Signifikanzniveaus zwischen den Vergleichsgruppen.....	123
Abb. 40: Dunkelatmung, R_d (1), CO_2 -Gaswechsel bei Belichtung mit 850 PAR, R_L (2) und Bruttphotosynthese, P_B (3) von 0-jährigen Zweigen (gepunktet) und 1-jährigen Zweigen (uni) optisch gesunder Erlen (grau, $n = 11$ und $n = 10$) sowie von entsprechenden Zweigen <i>Phytophthora</i> -infizierter Erlen (schwarz, $n =$ jeweils 10); Verglichen werden jeweils (a) Respiration / Photosynthese in $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ mit (b) der Respiration / Photosynthese im Bezug auf den Chlorophyllgehalt des Gewebes [$\mu\text{mol CO}_2 (\text{g Chl} / \text{m}^2)^{-1} \text{ s}^{-1}$]; dargestellt sind MW, SE sowie Signifikanzniveaus zwischen infizierten und nicht infizierten Erlen.....	129
Abb. 41: Zusammenhang zwischen Bruttphotosynthese (Brutto-PS) und Dunkelatmung (R_d) von 0-jährigen Zweigen (a) und 1-jährigen Zweigen (b) optisch gesunder Erlen (weiß mit schwarzer Trendlinie; y_1 und y_3 ; $n = 11$ und $n = 10$) sowie von entsprechenden Zweigen <i>Phytophthora</i> -infizierter Erlen (schwarz mit roter Trendlinie; y_2 und y_4 ; $n =$ jeweils 10); dargestellt sind die Einzelwerte der Gruppen, lineare Bezüge sowie das jeweilige Bestimmtheitsmaß	134
Abb. 42: (siehe vorige Seite) Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (Fv/Fm) in der Übergangszone von <i>P. alni</i> -geschädigtem zu unbeeinflusstem Rindengewebe einer Schwarzerle über einen Zeitraum von 4 Monaten; dargestellt sind die Quantenausbeuten der Mantelfläche (44,4 cm Höhe x 32,4 cm Breite) durch Interpolation zwischen den Messergebnissen ($n = 999$)	139
Abb. 43: (siehe vorige Seite) Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (Fv/Fm) sowie der zugeordneten Absorption (Abs) in einem ausgewählten Abschnitt der in Abb. 42 dargestellten Übergangszone über einen Zeitraum von 3 Monaten (März bis Mai); parallel zur Darstellung der Parameter durch bildgebende Verfahren ist die Korrelation von Fv/Fm und Abs angeführt.....	145
Abb. 44: Maximale Quantenausbeuten (Fv/Fm) sowie die zugehörige Absorption (Abs) in einem Kontrollbereich, gemessen bei 20°C Lufttemperatur; parallel zur Darstellung der Parameter durch bildgebende Verfahren ist die Korrelation von Fv/Fm und Abs abgebildet.....	146
Abb. 45: Gegenüberstellung der Temperaturentwicklung auf der Nord-(blau)- und Süd-(rot)-front der Erle (dargestellt an einzelnen Tagesgängen parallel ermittelt zu den	

chlorophyllfluoreszenzanalytischen Untersuchungen) und den zugehörigen lokalen maximalen Quantenausbeuten in den Monaten März bis Mai.....	150
Abb. 46: Fällung einer Schwarzerle im fortgeschrittenen Krankheitsstadium	153
Abb. 47: Festlegung des Baumalters und des Infektionszeitpunktes anhand des Stammfußes der gefällten Erle; schwarze Linien markieren den Zeitraum bis zur Infektion mit <i>P. alni</i> , rote Linien den Infektionszeitraum	154
Abb. 48: Maximale Quantenausbeuten (Fv/Fm) in der Übergangszone von <i>P. alni</i> -geschädigtem zu unbeeinflusstem Rindengewebe einer Schwarzerle; dargestellt sind die Quantenausbeuten der Mantelfläche (41,4 cm Höhe x 31,8 cm Breite) durch Interpolation zwischen den Messergebnissen (n = 945)	155
Abb. 49: Absorption (Abs) und maximale Quantenausbeuten (Fv/Fm) eines ausgewählten Abschnitts der Übergangszone; parallel dazu ist die Korrelation von Fv/Fm und Abs dargestellt.....	156
Abb. 50: (siehe vorige Seite) Gegenüberstellung von intakten und zerstörten Gewebeanteilen: (a) Verhältnis von totem (schwarz) zu intaktem (grau) Rindengewebe pro Rindenquerschnitt (100%), (b) Verhältnis von totem (schwarz) zu intaktem (grau) Holz pro Holzquerschnitt (100%), (c) Korrelation zwischen den Anteilen zerstörten Holzes und zerstörten Rindengewebes (beides in %); es wurden jeweils die in Abb. 6 markierten Stammsegmente, stammaufwärts orientiert, zur Auswertung hinzugezogen; in (a) und (b) ist auf den Bereich der Übergangs- und Messzone hingewiesen (eingefasst von gestrichelten Linien; M1 – M15)	159
Abb. 51: Schema zu den Dimensionen („Raum“ und „Zeit“) der direkten und indirekten Einflussnahme durch <i>P. alni</i> auf die Schwarzerle. Pfeile mit durchgehenden Linien bedeuten direkte lokale Einflussnahme, Pfeile mit gestrichelter Linie indirekte Beeinflussung vor dem Hintergrund systemischer Schädigung. Rote Blockpfeile weisen auf die zeitliche Dimension (Entwicklungszyklus von <i>Alnus glutinosa</i>) hin. 163	

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Absorption von Zapfen von nicht infizierten Erlen (K), n = 20, und von <i>P. alni</i> -infizierten Erlen (inf), n = 24, sowie von Kätzchen entsprechender Probenbäume (n = 18 und n = 26); dargestellt sind MW, SD sowie Signifikanzniveaus	65
Tab. 2: Blattzahl je Pflanze, gezählt an Keimlingen aus Samen nicht infizierter Erlen (Kontrolle) sowie an Keimlingen aus Samen <i>Phytophthora</i> -infizierter Erlen (Mutterpflanze infiziert) 8, 10 und 17 Wochen nach der Aussaat (n. A.); dargestellt sind MW, SD sowie Signifikanzniveaus zwischen beiden Gruppen	76
Tab. 3: Flächen pro Blatt und Blattflächen pro Pflanze, gemessen an Keimlingen aus Samen nicht infizierter Erlen (Kontrolle) sowie an Keimlingen aus Samen <i>Phytophthora</i> -infizierter Erlen (Mutterpflanze infiziert) 10 und 17 Wochen nach der Aussaat (n. A.); dargestellt sind Anzahl n, MW, SD sowie die Signifikanzniveaus (Sign.) zwischen den beiden Gruppen.....	77
Tab. 4: Gegenüberstellung der Entwicklung von Keimlingen vergleichbaren Alters anhand der Sprosshöhen und des Gesamtchlorophyllgehalts; verglichen werden Keimlinge des Infektionsversuchs über Bodensubstrat (9 Wochen) und Keimlinge aus Saatgut infizierter und nicht infizierter Mutterpflanzen (10 Wochen); dargestellt sind MW und SE	91
Tab. 5: Sprosslängenzuwachs in cm und Durchmesserzuwachs in mm von <i>Phytophthora alni</i> -inokulierten Erlen und Kontrollerlen im Gesamtzeitraum der Untersuchungen (GZR = 92 Tage) sowie die Zuwächse pro Tag; dargestellt sind MW und SD sowie die Signifikanzniveaus (Sign.).....	92
Tab. 6: Absolute, auf der Rinde auftreffende Lichtintensität, korrigiert um peridermale Transmission (Abb. 38); dargestellt sind MW und SD	121
Tab. 7: Gesamtchlorophyllgehalt und Chlorophyll a/b-Verhältnisse von Zweigen <i>P. alni</i> -infizierter und nicht infizierter Zweige (0- und 1-jährig; n = jeweils 13); dargestellt sind MW und SE	124
Tab. 8: Vergleich der Rindendicken sowie der Gesamtanteile corticulaner Gewebe am Zweigdurchmesser (Anteil Ø) von Zweigen <i>P. alni</i> -infizierter Erlen und symptomfreier Erlen (n= jeweils 13); dargestellt sind MW, SE sowie Signifikanzniveaus	124

1 Einleitung

1.1 „Pflanzenzerstörer“: Die Gattung *Phytophthora*

Die Gattung *Phytophthora* besteht in erster Linie aus einer Reihe von Phytopathogenen, deren Name auf diese Eigenschaft zurückzuführen ist. Die Namensgebung, die sich vom griechischen „phyto“ (Pflanze) und „phthora“ (Zerstörer) ableitet, stammt von ‚de Bary‘ und kann als Reaktion auf den Organismus verstanden werden, durch den im 19. Jahrhundert große wirtschaftliche und existentielle Schäden entstanden sind. Unter anderem führten phytopathogene Erreger dieser Gattung 1845/46 zur Zerstörung der kompletten Kartoffelernte in Irland, was Massenarmut, Auswanderung und vor allem den Hungertod von Millionen von Menschen zur Folge hatte. Nach der Beschreibung dieses Erregers *P. infestans* (Mont.) de Bary (1876) als dem ersten offiziellen Begründer seiner Gattung folgten bis 1996 umfassende Charakterisierungen von über 50 weiteren Arten, die sich weiterhin durch ihre gattungsinterne Diversität auszeichnen (Erwin und Ribeiro 1996).

Systematisch ist die Gattung *Phytophthora* dem Reich der Chromista untergeordnet, dass im größeren Kontext der Eukaryota neben den Animalia, Plantae, Fungi und Protozoa angesiedelt ist, wählt man den Bezug zum modernen System der acht Reiche (dieses System findet seine Ergänzung durch die Eubacteria, Archaeobacteria und Archaezoa, die die Gruppe der Prokaryoten bilden).

Zum Reich der Chromista, einer Gruppe von weitgehend niederen und pilzähnlichen Algen, die sich aus heterokonten, biflagellaten Organismen zusammensetzen, gehört unter anderem der Stamm der Oomycota (Algenpilze), die sich über sexuell gebildete Überdauerungsstrukturen (Oosporen) sowie ein unseptiertes, coenocytisches Myzel charakterisieren lassen. Weiterhin liegen als Hauptkomponenten der Zellwand Cellulosen und Hemicellulosen anstelle von Chitin vor, was den Eindruck einer Zwischenstellung zwischen Pflanzen und Pilzen vermittelt. Ebenso fehlt Ergosterol als sonst obligatorischer Bestandteil von pilzlichen Zellmembranen.

Die direkte phylogenetische Verwandtschaft zu den Stämmen der Braunalgen (Phaeophyta), Kieselalgen (Bacillariophyta) und Goldalgen (Chrysophyta) und die Entfernung zum Reich der Fungi verdeutlicht, dass die gewöhnlich verwendete Bezeichnung „Pilz“ im Zusammenhang mit *Phytophthora* ein Relikt einer überholten

Systematik darstellt. Noch in den 70er Jahren wurde die Gattung *Phytophthora* den Phycomyceten und somit den Fungi zugeordnet (Erwin und Ribeiro 1996).

Der Stamm der Oomycota ist der einzige innerhalb seines Reiches, der im Laufe seiner Phylogenese den Verlust von Chloroplasten und somit von autotropher Ernährung zu verzeichnen hat, was der Grund für die hauptsächlich parasitäre Lebensweise sein kann (Campbell 1997).

Innerhalb der Oomycota ist *Phytophthora* im Weiteren bei der Ordnung Pythiales und der Familie der Pythiaceae angesiedelt, die sie sich mit der Gattung *Pythium* und *Halophytophthora* teilt (Dick 1990).

Aufgrund zunehmender molekulargenetischer Analysen, welche die taxonomischen Zuordnungen nach morphologischen Gesichtspunkten weitgehend abgelöst haben, haben sich Beziehungen zwischen und innerhalb von Gattungen und Arten in den letzten zwei Jahrzehnten teilweise verändert. So ist die Einteilung der Gattung *Phytophthora* in sechs Gruppen nach Waterhouse (1963) in einigen Punkten hinfällig. Bei Cooke et al. (2000) finden sich Cluster zur Zuordnung von 50 *Phytophthora*-Arten auf der Basis von ITS (Internal Transcribed Spacer)-Sequenzanalysen der rRNA.

Phytophthora enthält neben Luftkeimen viele bodenbürtige Arten, die hauptsächlich bei Kraut- und Holzpflanzen Kraut-, Knollen-, Wurzel- und/oder Wurzelhalsfäulen auslösen und neben ihrer ökologischen von großer forst- und landwirtschaftlicher Bedeutung sind. Sie sind weltweit am Rückgang von Holzpflanzen in Wäldern involviert (Oßwald 2004), wie die folgenden Beispiele demonstrieren:

Über Wurzel- und Stammschäden an der Rotbuche, die mit einem Anteil von 14 % der häufigste Laubbaum in Deutschland ist, wurde bereits 1938 von Day (1938) berichtet. Seitdem konnten in Deutschland verschiedene *Phytophthora*-Arten wie *P. cambivora* und *P. citricola* mit den Schäden in Verbindung gebracht werden (Fleischmann et al. 2002, Jung 2005). In weiteren europäischen Ländern sowie in den USA wurden etliche weitere Arten an erkrankten Buchen isoliert (Jung et al. 2005). Stamminfektionen führen im Kronenbereich neben Welkeerscheinungen rasch zu Reduktionen in der Blatt-Nettophotosynthese sowie zu Veränderungen im Blattwasserpotential und Gesamtwasserverbrauch (Fleischmann 2005).

Viele *Phytophthora*-Arten haben keinen spezifischen Wirt, sondern erzeugen massive Schäden an unterschiedlichen Gehölzen:

So sind zum Beispiel die oben mit der Rotbuche assoziierten Phytopathogene *P. cambivora* und *P. citricola* neben weiteren Erregern der Gattung ebenfalls an der Entstehung der Wurzelfäule bei *Quercus robur* beteiligt. Wie bei vielen durch bodenbürtige *Phytophthora*-Arten induzierten Krankheitsbildern ist auch dieses im Weiteren durch teerähnliche Exsudate am Stamm, Welkesymptome, zunehmende Kronentransparenz und das Absterben von Ästen und Zweigen charakterisiert (Jung et al. 2000, Oßwald et al. 2001). *P. cambivora* gehört in den USA und Europa außerdem zu den Initiatoren der Tintenkrankheit von *Castanea sativa* (Day 1932, Oßwald et al. 2004), die in Italien eine große Rolle im Hinblick auf die Mortalitätsrate der Edelkastanie spielt (Vettraino et al. 2001).

Zusätzlich zu *P. cambivora* wird *P. cinnamomi* für die Tintenkrankheit an *Castanea sativa* verantwortlich gemacht (Crandall et al. 1945); außerdem wird der Erreger in mediterranen Regionen mit dem Absterben von *Quercus suber* und *Quercus ilex* in Verbindung gebracht (Brassier 1992, 1996). Auch Rückgänge von *Eucalyptus marginata* in Australien sind auf *P. cinnamomi* zurückzuführen, an denen das Pathogen für die Zerstörung der vertikalen Wurzelsysteme verantwortlich ist. Auf physiologischer Ebene wurden Verluste in der stomatären Leitfähigkeit sowie ein Absinken des Blattwasserpotentials festgestellt, was über den pathogenbedingten Verlust von Wurzeln und eine als Konsequenz reduzierte Wasseraufnahmefähigkeit begründet wird und auf schweren Wasserstress im Kronenbereich hinweist (Crombie et al. 1990). An Avocado löst *P. cinnamomi* ähnliche Effekte aus; die schweren Wurzelschädigungen entstehen dabei hauptsächlich infolge periodischer Überflutungen (Sterne et al. 1978, Ploetz und Schaffer 1989). Dieser Erreger, der seinen Ursprung in Papua Neuguinea haben soll, ist mittlerweile weit gestreut und konnte sein Wirtsspektrum entsprechend erweitern; mit vermutlich über 1000 Wirtsarten birgt er ein sehr hohes Gefahrenpotential (Erwin und Ribeiro 1996, Oßwald 2004).

Ein letztes Beispiel für die forstwirtschaftliche Bedeutung von *Phytophthora*-Arten ist die Wurzelfäule an *Prunus avium* (L.), einem für die Holzindustrie wichtigen Holzlieferant und daraus begründet einem zunehmend häufig an natürlichen sowie an künstlichen Standorten auftretenden Gehölz. Dessen Wurzelfäule wird mit einer Vielzahl von *Phytophthora*-Arten in Verbindung gebracht. Bislang wurden unter Freilandbedingungen *P. megasperma* und *P. cryptogea* in fauligen Wurzelabschnitten entdeckt, während *Prunus avium* bei initiiertem Inokulation über

Zweige oder Stamm ebenfalls auf *P. cactorum*, *P. syringae*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. citricola* und *P. nicotianae* mit Wurzel- oder Kronenfäulnis reagierte (Thomidis und Sotiropoulos 2003, Santini 2006). Anhand der Sensitivität auch gegenüber verschiedenen anderen Spezies der Gattung wird deutlich, dass Wirtsspektren zum Teil nur aufgrund räumlicher Grenzen eingeschränkt sind, dass aber das Potential zu deren Ausdehnung durchaus gegeben ist.

In den letzten zwei Jahrzehnten wurde eine Vielzahl an neuen *Phytophthora*-Arten entdeckt. Einige von ihnen sind an den bekannten Wald- und Forstschäden mitbeteiligt, bei anderen ist deren ökologische Rolle noch weitestgehend unklar. Während bis 1990 ungefähr 50 Arten bekannt waren, sind alleine in Europa im anschließenden Jahrzehnt mehr als zehn Arten hinzugekommen bzw. entdeckt worden (Brasier 2003). Zum jetzigen Zeitpunkt wird von etwa 100 Arten weltweit ausgegangen (Brasier, mündl. Mitteilung im Rahmen eines Vortrags in Novy Smokovec April 2009). Die Entdeckung immer neuer Arten geht einher mit einem zunehmenden Bewusstsein der steigenden Bedeutung der Gattung *Phytophthora* für die weltweiten Wald-Ökosysteme. Eine wesentliche Gefahr besteht darin, dass im Zuge der Globalisierung Ökosysteme nicht mehr nur mit gebürtigen Pathogenen, sondern mit fremdartigen Erregern konfrontiert werden, denen sie im schlechtesten Fall keine Resistenzen entgegensetzen können. Wie am Beispiel von *P. cinnamomi* in Ansätzen skizziert wurde, besteht die Möglichkeit, dass Erreger sich allmählich anpassen und die Fähigkeit erlangen, ihr Wirtsspektrum auszudehnen. Das Aufeinandertreffen verschiedener *Phytophthora*-Arten unterschiedlichen (geographischen) Ursprungs kann dazu führen, dass diese hybridisieren und neue oder modifizierte Arten bilden, denen neue Pflanzenkrankheiten folgen können. Dieses Szenario wird im Folgenden für *Phytophthora alni* und das „neuartige“ Erlensterben beschrieben.

1.2 Neue Wirtsspezifität als Ergebnis von Hybridisierung: *Phytophthora alni*

Phytophthora-induziertes Absterben von Schwarzerlen wurde erstmals 1993 in Großbritannien registriert. Vorwiegend an Flussläufen und an durch Hochwasser charakterisierten Standorten beobachtete man das Erkranken und Absterben

hauptsächlich von Schwarzerlen. Als ebenfalls betroffen wurden flussferne Aufforstungen angeführt (Gibbs et al. 1999).

Seit der Kenntnisnahme des Erlensterbens in Großbritannien wurde die Wurzelhalsfäule auch an verschiedenen anderen europäischen Standorten festgestellt wie in Deutschland, Frankreich, Irland, Schweden, Belgien, Polen, Österreich, Ungarn, Italien, den Niederlanden, Slovenien sowie zuletzt in Tschechien (Gibbs et al. 1999, Satini et al. 2001, Szabó et al. 2000, Gibbs et al. 2003, Jung und Blaschke 2004, Oßwald et al. 2004, Cerny et al. 2008). Auch in Nordamerika (Alaska) wurde mittlerweile *P. alni* ssp. *uniformis* an Erlenstandorten entdeckt und isoliert (Trummer 2007).

Das Pathogen ist seit 2004 als *Phytophthora alni* Brasier & S.A. Kirk beschrieben und ist seitdem offiziell der Verursacher der Wurzel- und Wurzelhalsfäule an *Alnus* spp. (Brasier et al. 2004). Isolate des Pathogens weisen in einigen Bereichen Ähnlichkeiten mit *P. cambivora* auf. So zeigt sich unter anderem eine Vergleichbarkeit hinsichtlich der Morphologie der Gametangien. Auf der anderen Seite gibt es auch Abweichungen bezüglich einiger Merkmale: *P. alni* ist homothallisch im Gegensatz zur heterothallischen *P. cambivora* und weist einen deutlich höheren Grad an fehlgebildeten Oosporen auf, weshalb *P. alni* nur eine stark eingeschränkte sexuelle Vermehrungsphase aufweist.

Hinzukommende Bewertungen der ITS-Sequenzen der rDNA und von Polymorphismen des Genoms führten zu der Annahme, dass *P. alni* das Ergebnis einer Hybridgenese zweier Arten ist. Genannt wurden in diesem Zusammenhang *P. cambivora* und eine homothallische *P. fragariae*-ähnliche Spezies (Brasier et al. 1999).

Infolge der Hybridisierung zwischen verschiedenen Arten enthält *P. alni* innerhalb ihrer Art eine Reihe phenotypisch unterschiedlicher polyploider Genotypen. Eine so bedingte Polyploidie steht meistens im Zusammenhang mit einer erschwerten sexuellen Fortpflanzung. Meistens zeigen sich Unregelmäßigkeiten bei der meiotischen Zellteilung derart, dass die Chromosomen bei *P. alni* bei der Meiose keine Bivalente bilden (Delcan und Brasier 2001). Die zufallsgemäß gebildeten Univalente finden sich nur in seltenen Fällen in einem der Tochterkerne zusammen, was zur Allotetraploidie führt und die Fertilität wiederherstellt. In der Regel bleibt aber

die Paarung zu Tetraden aus, was eine Voraussetzung für die Trennung der Chromosomensätze wäre (Campbell 1997).

P. alni lässt sich in drei Subspezies unterteilen: *P. alni* ssp. *alni*, *P. alni* ssp. *uniformis* und *P. alni* ssp. *multiformis* (Brasier et al. 2004). Bis zur Unterteilung in diese drei Subspezies fand eine Differenzierung in ‚Standard hybrid‘ (*P. alni* ssp. *alni*), ‚Swedish variant‘ (*P. alni* ssp. *uniformis*) und ‚Dutch, German and UK variants‘ (*P. alni* ssp. *multiformis* sowie weitere Hybride) statt (Brasier et al. 1999). Die letzten vier Varianten wurden als genetisch fehlerhafte Produkte der Standardform oder als Rückkreuzungsprodukte oder als Ergebnisse früherer Hybridisierungsereignisse eingeschätzt.

Trotz der mittlerweile umfassenden Kenntnisse hinsichtlich morphologischer Aspekte, wie etwa der Gestaltung der Gametangien, sowie der in den letzten Jahren zunehmenden Erweiterung des Wissenstandes bezüglich des Genoms (Nagy et al. 2003; Brasier et al. 2004, loos et al. 2006, Bakonyi et al. 2007) sind die Herkunftsarten, die zur Bildung von *P. alni* geführt haben, noch immer unklar. Die Kombination von *P. cambivora* und einer mit *P. fragariae* verwandten Art als Elterntypen erscheint in mancher Hinsicht unwahrscheinlich, da beide Arten als selten für Europa eingestuft werden (Érsek et al. 2008). Unsicherheit herrscht ebenso bei den Mechanismen, die zur Entwicklung der Unterarten geführt haben. Die bislang aktuellste Überlegung zur Bildung der Unterarten und damit im Endeffekt auch zur Herkunftsfrage zu *P. alni* stammt von loos (loos et al. 2006). Hiernach könnte *P. alni* ssp. *alni* als Folge der Hybridisierung der anderen beiden Subspezies entstanden sein, während sich *P. alni* ssp. *uniformis* aus *P. cambivora* heraus gebildet und sich *P. alni* ssp. *multiformis* aus sich selbst heraus generiert haben könnte als mögliche Folge von Autopolyploidisation. Das Modell stützt sich auf europaweite genetische Analysen von *P. alni*-Isolaten. Diese und ähnliche Überlegungen sowie die Tatsache der Existenz verschiedener weiterer Varianten von *P. alni* führen zu der Annahme, dass das Pathogen sich aktuell in einem Stadium kontinuierlicher und vor allem aktiver Entwicklung befindet, was im Grunde auch die Möglichkeit der weiteren Spezifizierung und Zunahme von Aggressivität beinhaltet.

Die drei Subspezies scheinen sich hinsichtlich ihrer Virulenz und Pathogenität bezüglich europäischer Erlen zu unterscheiden (Brasier und Kirk 2001, loos et al. 2006). Die Nebenform *Phytophthora alni* ssp. *alni* ist diejenige, die primär für das

Erlensterben in Europa verantwortlich gemacht wird. Zudem ist es wohl die am häufigsten auftretende Subspezies (Brasier 2003). Die anderen beiden Formen, *P. alni* ssp. *uniformis* und *P. alni* subsp. *multiformis* werden als deutlich weniger aggressiv bezeichnet, obwohl sie durchaus für pathogen gehalten werden (Brasier und Kirk 2001, Iosifidis et al. 2006).

Die Infektion der Erlen durch *P. alni* folgt aufgrund der nicht keimfähigen Oosporen nur in Teilen dem für Boden besiedelnde *Phytophthora*-Arten gemeinsamen Muster: Normalerweise befinden sich Oosporen in der Rhizosphäre und keimen aus bei gemäßigten Temperaturen zwischen 8 – 15°C nach Stimulation über das saure bis schwach saure Milieu (pH von 3,9 – 6), das durch die Abscheidung von Wurzelexsudaten entsteht, und bilden Myzel. Dieser Schritt fehlt bei *P. alni*.

Dieser Erreger sichert seine Existenz auf asexuellem Weg (vgl. Abb. 1). Asexuell gebildetes Myzel enthält Zoosporangien, die unter der Anwesenheit von Wasser als Medium sowie unter der Stimulation durch Exsudate Zoosporen entlassen, die sich mittels ihrer zweifachen Begeißelung in Richtung der Feinwurzeln der jeweiligen Wirtspflanze bewegen können. Die Annäherung erfolgt chemotaktisch. Nach dem Kontakt mit Feinwurzeln oder mit natürlichen Eintrittsstellen wie Lenticellen, aber auch mit Pforten, die durch Verletzungen entstanden sind, werfen die Zoosporen ihre Geißeln ab und bilden Zysten. Nach der Anheftung an die Zellwand keimen die Zysten unter Bildung von Keimschläuchen, die eventuelle Barrieren durchdringen können, sowie unter Bildung von Myzel. Die sich entwickelnden Hyphen nehmen von den Feinwurzeln oder der Stammbasis ausgehend weitere Bereiche des Wurzelsystems ein und wachsen über das Phloem und Kambium hinauf in den Stamm. Mit der Bildung neuer Zoosporangien am Myzel ist der asexuelle Zyklus geschlossen (Erwin und Ribeiro 1996, Oßwald et al. 2004). Das Myzel sowie das Zoosporen-Stadium sind die wesentlichen Stadien für das Fortbestehen des Erregers.

Neben den keimungsunfähigen Oosporen bildet das Pathogen keine asexuellen Chlamydosporen aus, wie es für viele andere Arten der Gattung bekannt ist (Brasier et al. 2004). Das Fehlen entsprechender Überdauerungsformen führt dazu, dass *P. alni* aus Boden oder Wasser kaum zu isolieren ist (Jung und Blaschke 2004), was zu der Annahme führt, dass es wahrscheinlich im Boden wenig konkurrenzfähig gegenüber anderen Bodenorganismen ist und die Überlebensdauer außerhalb des Wirtes eingeschränkt ist.

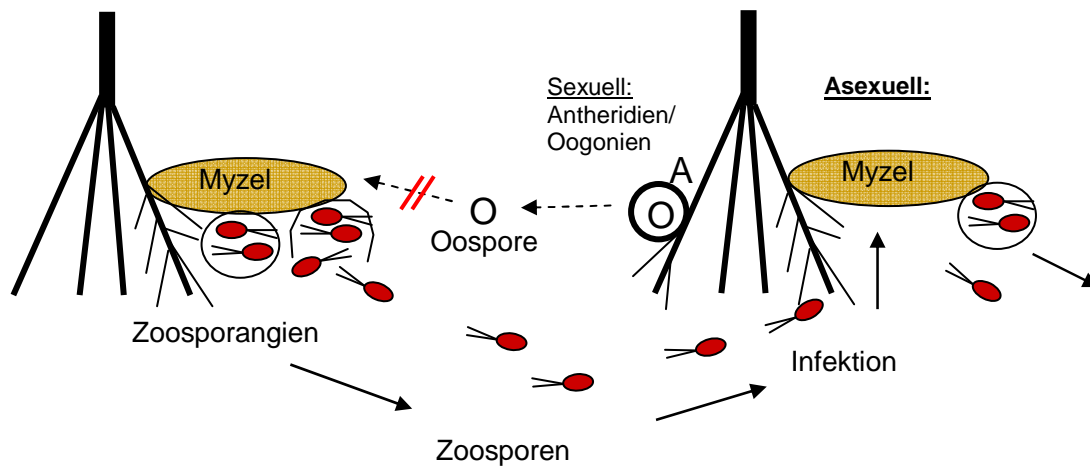


Abb. 1: Infektions- und Lebenszyklus von *Phytophthora alni* (Schema). Angedeutet ist auch der sexuelle Lebenszyklus, der aufgrund der keimungsunfähigen Oosporen aber nicht stattfindet

1.3 Erlenstamm- und Wurzelfäule

Merkmale für die durch *P. alni* ausgelöste Krankheit an Erlen sind die spärliche Belaubung mit vergleichsweise kleineren und chlorotischen Blättern sowie ein fortschreitendes Absterben der Krone (vgl. Abb. 2). Der Blattabwurf dieser Bäume findet in der Regel verfrüht statt. Beobachtet werden kann außerdem eine übermäßige Fruktifikation, wobei die gebildeten Zapfen ungewöhnlich klein ausfallen. Als charakteristisch wird die Bildung einer zungenförmigen Nekrose erachtet, die im Rinden- und Kambiumgewebe bis in eine Höhe von 2 bis 3 m emporsteigen kann und ihren Ursprung bereits im Wurzelgewebe hat. Zu sehen ist sie nach dem Entfernen der darüberliegenden Borke. Die Nekrose gürtelt den Stamm im schlechtesten Fall und unterbindet den Phloemfluss in Richtung der Wurzeln (Jung und Blaschke 2001, Webber et al. 2004).

Hinzu kommen in diesem Zusammenhang sogenannte „Teerflecken“ an der Borke, die sich ebenfalls bis in die genannte Höhe erstrecken können. Diese schwarzen bis rostfarbenen ‚Spots‘ entstehen durch Exsudate, die nach außen abgeschieden werden und ein deutlicher Indikator dafür sind, dass sich die darunter befindende Rinde in einem Prozess des Absterbens befindet.



Abb. 2: Rötlich-braune Exsudate (Teerflecken) und eine Verlichtung der Krone bis zur völligen Blattlosigkeit sind typische Symptome für einen fortgeschrittenen Krankheitsverlauf im Zuge einer Infektion mit *Phytophthora alni* (Standort: Dülmen - Karthaus)

P. alni konnte bislang ausschließlich in Rindengewebe identifiziert werden, was zu der vermutlich fakultativ biotrophen Lebensweise des Erregers passt (Prell 1996). Häufig können in den Bereichen (über)lebenden Rindengewebes am Stamm neue Austriebe beobachtet werden, die als Überlebensstrategie verstanden werden können. Andere Individuen überwinden den Befall mit *P. alni* durch die Bildung von Kallusgewebe. Es ist so in einigen Fällen möglich, durch die Überwallung der toten Rindengewebe eine funktionelle und im besten Fall dauerhafte Verbindung zwischen dem Wurzelsystem und der Krone zu schaffen. Bei fortschreitendem Krankheitsverlauf werden die Zweig- und Aststrukturen und zum Teil Bereiche des Stamms brüchig (Webber 2004). Dies ist als Folge eines nahezu obligatorischen Sekundärbefalls zu betrachten. Sekundäre (Holz)Parasiten nutzen nekrotische Gewebe oft als Pforten zu den bereits geschwächten Pflanzen, was im Zuge der fortschreitenden Holzerstörung dazu führt, dass ein zusätzlicher Verlust an physiologischer und mechanischer Stabilität entsteht. Dies mündet in der Regel in einer zusätzlichen Beschleunigung des Krankheitsverlaufes durch *P. alni*

(Schumacher 2004, Schumacher et al. 2006). Sekundärbefall ist daher als Bestandteil der komplexen Pathogenese zu werten.

1.4 *Alnus glutinosa* [L.] Gaertn. als spezifischer Wirt und begünstigende Faktoren

Vergleiche bezüglich der relativen Anfälligkeit der vier europäischen Erlenarten ergaben, dass *Alnus glutinosa*, welche die am meisten verbreitete Erlenart darstellt, die am häufigsten betroffene ist und zudem am empfindlichsten auf einen Befall reagiert. Berichte über das Auftreten der Erlenstammfäule liegen aber auch von *A. incana* und *A. cordata* vor, wobei *A. incana* die größte Resistenz in dieser Gruppe aufweist (Gibbs 1995, Webber et al. 2004, Lilja 2006).

Zu *A. viridis* liegen bislang keine Berichte über einen natürlichen Befall durch *P. alni* vor, wobei eine Infektion an sich möglich ist, wie Infektionsversuche zeigten (Jung und Blaschke 2001). Es ist möglich, dass die Grünerle aufgrund ihrer Verbreitung wenig bis gar nicht betroffen ist, da sie hauptsächlich an hochmontanen bis subalpinen Standorten vorkommt. Im Gegensatz dazu ist die Schwarzerle in Mitteleuropa nur im Tiefland bis in die mittleren Berglagen zu finden, lediglich am Alpenrand kommt sie baumfähig noch bis 1050 m vor (Ewald und Fischer 1993). Die Höhengrenze bei *A. glutinosa* kann allerdings nicht an eine fehlende Kältetoleranz gekoppelt sein, da sie zum Beispiel in der östlichen Taiga (Russland) mit einer mittleren Jahrestemperatur von +0,2°C zurechtkommt. Aufgrund der Gegenüberstellung von Klimadiagrammen der Verbreitungsgebiete schlussfolgerten Walentowski und Ewald (2003), dass die klimatische Verbreitungsgrenze vor allem mit einer ausreichenden Wärmeanforderung in der Vegetationsperiode zusammenhängt. Die Grünerle hingegen verträgt auch in den Sommermonaten verhältnismäßig niedrigere Temperaturen, die teilweise 10°C nicht übersteigen. Es wird bei einigen *Phytophthora*-Arten davon ausgegangen, dass ansteigende Temperaturen in gemäßigten Zonen, beispielsweise herrührend von globaler Erwärmung, förderlich für deren infektiöse Aktivitäten und deren Ausbreitung sind (Brasier und Scott 1994). Bei *P. alni* zeigte sich ein optimales Wachstum bei etwa 25°C (Santini 2001, Clemenz 2007). Zwar müssten Infektionen innerhalb der Vegetationsperioden per se möglich sein; allerdings sind diese Zeitabschnitte zum einen in den Hochlagen wesentlich kürzer und zum anderen sind die Kälte- bzw.

Frostereignisse dort deutlich häufiger, so dass eine dauerhafte Etablierung des Pathogens wahrscheinlich nicht zu realisieren ist. Temperatur kann daher für das Fehlen von Infektionen an *A. viridis* durchaus der entscheidende Faktor sein.

Bezogen auf die Schwarzerle sind nahezu alle Altersstadien betroffen. Streito et al. (2002) berichteten, dass Stamminfektionen bislang an allen Altersstadien zwischen 2 bis 60 Jahren beobachtet werden konnten. In forstlichen Erlenbeständen Bayerns war der Großteil der erkrankten Bäume Kartierungen zufolge der Altersklasse 6 bis 15 Jahre zuzuordnen, während 1- bis 5-jährige Bäume nur zu 16 % betroffen waren (Jung und Blaschke 2003).

Alnus glutinosa ist auch aufgrund ihrer ökologischen Stellung besonders infektionsgefährdet. Als Baumart mit extremer Toleranz gegenüber Überschwemmungen sowie Dauernässe ist sie vor allem an Ufern von Bächen und Flüssen verbreitet oder kommt in Bruchwäldern, die durch einen sehr hohen Grundwasserspiegel charakterisiert sind, vor. Durch die vorteilhafte Morphologie des Wurzelsystems, was sich zum einen durch ein tiefgreifendes Herzwurzelsystem auszeichnet, das der Verankerung sowie der Durchdringung der teilweise dichten, Wasser stauenden Bodenschichten dient, und zum anderen durch Wurzelaerenchyme, die die Sauerstoffversorgung der Wurzeln auch unter anaeroben Bedingungen gewährleisten können (Aas 2003), ist die Schwarzerle die dominierende und teilweise einzige Baumart an den genannten Standorten. Die Schwarzerle wird daher häufig zur Aufforstung von Flussumfern zu deren Festigung sowie zur Stabilisierung von Böschungen verwendet. Entsprechend ist die Infektionsmöglichkeit über im Grund- oder Flusswasser vorhandene Zoosporen bei häufig bis dauerhaft untergetauchten Wurzeln gegenüber vielen anderen Baumarten heraufgesetzt. Allein in Bayern waren 2003 bereits weit über 50 % der Flüsse erster bis dritter Ordnung durch *P. alni* belastet, wobei das Schadausmaß bei den Erlen am größten war, die in ständigem Kontakt zum Flusswasser standen (Jung und Blaschke 2003). In Südengland waren 1996, drei Jahre nach der Entdeckung der Krankheit, bereits 7,9 % der Bäume der flächendeckenden Bestandsaufnahme symptomatisch oder abgestorben, wobei die Bäume, die nicht mehr als 1 m vom Ufer entfernt standen, sieben Mal häufiger Symptome aufwiesen als Erlen mit größerem Abstand (Gibbs et al. 1999).

Parallel zur Übertragung über das Medium Wasser wird im begrenzten Maße eine Ausbreitung des Pathogens mittels tierischer Vektoren wie Fischen,

Wasserschnecken oder Wasservögeln nicht ausgeschlossen (Jung und Blaschke 2003).

Neben der standortbedingten Disposition ergab sich in der Vergangenheit noch eine ganz andere Problematik. Im Zuge von Kartierungen und Beobachtungen wurde festgestellt, dass auch Erlenbestände an uferfernen bzw. nicht überfluteten Standorten durch *P. alni* beeinträchtigt waren (Gibbs 1995). Diese Bestände konnten weitgehend auf Pflanzungen mit Baumschulmaterial zurückgeführt werden (Jung und Blaschke 2003, 2004).

Gutachten über Baumschulen ergaben, dass Jungpflanzen bereits in den Baumschulen infiziert waren oder wurden. Dies geschah zum einen über infiziertes Gießwasser (Gibbs et al. 2003, Jung und Blaschke 2004), was aus belasteten Gewässern bezogen wurde, und zum anderen über den Erstbezug der Pflanzen von Großhändlern anstelle der eigenen Anzucht über Samen. Die Verbreitung des Erregers ist im letzten Fall dem Schneeballprinzip zuzuschreiben (Jung und Blaschke 2004). Auch bei anderen hoch pathogenen *Phytophthora*-Arten wie *P. cambivora* und *P. citricola* sprechen Untersuchungen für die Verbreitung der Pathogene im Baumschulbereich (Jung 2005).

Für *P. alni* wird darüber hinaus in Betracht gezogen, dass es sich um einen erst in Baumschulen entstandenen Hybrid handelt (Jung und Blaschke 2001, Brasier 2003). Ein Indiz für evolutive Prozesse ist das gleichzeitige Auffinden von *P. alni*, *P. cambivora* und einem mutmaßlichen Rückkreuzungsprodukt zwischen den beiden in einer beprobten Baumschule (Jung und Blaschke 2004).

Die Ausgabe bereits erkrankten Baumschulmaterials wird vermutlich unterstützt durch die übliche Verwendung von Fungiziden oder anderen Pflanzenschutzmitteln. Trotz eines Befalls mit Erregern können Pflanzen äußerlich so gesund wirken, dass sie trotzdem zu Pflanzzwecken verwendet werden. Baumschulen stellen auch insofern eine Problematik dar, als dass Pflanzen in Kontakt mit Pathogenen kommen, von denen sie unter natürlichen Bedingungen nicht infiziert würden. So konnten von einzelnen Jungpflanzen von *A. glutinosa* mindestens fünf verschiedene *Phytophthora*-Arten isoliert werden (Brasier 2003, Jung und Blaschke 2004). Die Anzucht verschiedener Pflanzen unterschiedlichen geografischen Ursprungs auf engem Raum birgt ein enormes Evolutionspotential für neue *Phytophthora*-Arten.

Über die Pflanzung von Baumschulmaterial können sich die Pathogene entsprechend in Forst und Wald ausbreiten.

Verschiedene Strategien zur Vermeidung von Infektionen bzw. zur Eindämmung wie das „Auf den Stock setzen“ von erkrankten Erlen, eine kontrollierte Anzucht aus Samen, Vermeidung der Verwendung von kontaminiertem Wasser wurden getestet und diskutiert (Jung und Blaschke 2001, 2004). Allerdings zeigten die Maßnahmen bislang nur bedingt Erfolg.

1.5 Die Rindenphotosynthese

P. alni konnte bislang ausschließlich in Rindengeweben identifiziert werden, was zu der vermutlich fakultativ biotrophen Lebensweise des Erregers passt (Prell 1996). Rindengewebe sind chlorophyllhaltige Gewebe, so genannte Chlorenchyme (Pfanz et al. 2002), die neben den Blättern die Fähigkeit zur Photosynthese besitzen (Pfanz et al. 2000, 2002, Manetas 2004, Damesin 2003, Wittmann 2005). Sie nutzen dabei das stamminterne Kohlendioxid (CO_2) und das durch das sekundäre Abschlussgewebe transmittierte Licht zur Photoassimilation und Produktion von Zucker und Stärke (Pfanz et al. 2002, Wittmann et al. 2001, Wittmann 2005). Positive Nettphotosyntheseraten werden von intakten Achsenorganen in der Regel nicht erzielt. Die Rindenphotosynthese scheint jedoch ein effektiver Mechanismus zu sein, um das respiratorische CO_2 zurückzugewinnen, bevor es aus dem Stamm diffundiert. Durch stamminterne CO_2 -Refixierung können etwa 60 – 90 % des potentiell freigesetzten Kohlendioxids im Rindengewebe der Bäume gebunden werden (Wittmann et al. 2001, Pfanz et al. 2002, Wittmann et al. 2006). Eine weitere Bedeutung der Rindenphotosynthese scheint neben der Reduktion der Atmungsverluste der Achsenorgane zudem in der Vermeidung von Sauerstoffmangel (Anaerobiosis) begründet zu liegen (Pfanz et al. 2002).

Darüber hinaus scheint die Rindenphotosynthese in Stressperioden von besonderer Relevanz zu sein. In diesem Fall kommt es zu einer geringeren Reduktion der Rindenphotosynthese im Vergleich zur Photosynthese der Blattorgane (Pfanz et al. 2002, Wittmann 2005, Wittmann et al. 2007). Zudem kann das Rindengewebe nach Defoliation durch Herbivore oder Pathogene (Eyles et al. 2009) durch die Bereitstellung zusätzlicher Energie einen positiven Beitrag zur Wundheilung und zur C-Bilanz von Laubbäumen beitragen.

Im fortgeschrittenen Stadium führen *P. alni*-Infektionen bei *Alnus glutinosa* ebenfalls zu einer Reduktion der Belaubung, so dass dem Kohlenstoff-Recycling in den Rindengeweiben betroffener Bäume möglicherweise eine besondere Bedeutung zukommt, um Kohlenstoff-Imbalancen entgegenzuwirken. Gleichzeitig stellen die Rindengewebe den Angriffsort für das Pathogen dar. Beide Aspekte machen die Rindenphotosynthese im Rahmen des Schwarzerlensterbens zu einem spannenden Untersuchungsgegenstand.

1.6 Forschungsstand

Die seit der Entdeckung des Erregers durchgeführten Untersuchungen sind vor allem anfangs schwerpunktmäßig von deskriptiver Natur gewesen bezogen auf die Symptomatik und die geographische Verbreitung sowie auf die Rückverfolgung der Entstehung von *P. alni* (vgl. Gibbs et al. 1999, Brasier et al. 1999, Szabó et al. 2000, Jung und Blaschke 2001, Satini et al. 2001, Gibbs et al. 2003, Jung und Blaschke 2004, Brasier 2003, Oßwald et al. 2004, Cerny et al. 2008, u.a.); es folgten molekulargenetische Analysen von *Phytophthora alni* bis hin zur Bestimmung verschiedener Varianten bzw. Unterarten (vgl. Nagy et al. 2003, Brasier et al. 2004, Iosif et al. 2006, Bakonyi et al. 2007, Érsek et al. 2008).

Anhaltspunkte zur Einflussnahme von *P. alni* auf die pflanzliche Physiologie und zu den Mechanismen, die zum Absterben betroffener Pflanzen führen, können unter anderem Studien geben, die zur Phytopathologie anderer *Phytophthora*-Arten durchgeführt wurden (vgl. Sterne et al. 1978, Ploetz und Schaffer 1989, Crombie et al. 1990, Luque et al. 1999, Fleischmann et al. 2002, Fleischmann 2005).

In jüngster Zeit kamen, unter anderem in methodischer Anlehnung an die genannten Studien, ökophysiologische und phytopathologische Untersuchungen bezüglich des *P. alni*-initiierten Krankheitsbilds an *Alnus glutinosa* hinzu. Es wurden in diesem Rahmen Unterschiede im CO₂/H₂O-Gaswechsel zwischen Blättern gesunder und kranker Erlen ermittelt sowie Tests zum Wasser-, Kohlenhydrat- und Nährstoffhaushalt durchgeführt, deren Ergebnisse ebenfalls Anhaltspunkte zu den Auswirkungen des Erregers gaben (Clemenz 2007). Der Schwerpunkt der meisten Untersuchungen lag deutlich im Kronenbereich, vor allem auf der Blattebene.

Einige bezogen sich auch auf die Zweig-/Ast- und Stammebene; dort wurden Zweig-Wasser-Potentiale und Xylemflüsse im Stamm gemessen (Clemenz 2007).

Schumacher (2005 und 2006) quantifizierte außerdem Nekroseflächen und Gürtelungen an infizierten Bäumen und konnte diese mit Mortalitätsraten sowie mit Nettophotosyntheseraten und stomatären Leitfähigkeiten von Blättern korrelieren. Weiterhin konnte er Erkenntnisse über Voraussetzungen für Infektionen wie Überflutungshäufigkeiten, begrenzende Temperaturminima und pH-Optima gewinnen.

Infektionsversuche an Schwarzerlen fanden bislang hauptsächlich im Labor statt; infiziert wurde dabei hauptsächlich über Stamminokulation, Infektionen über Bodensubstrat, die mit dem Infektionsprozess im Freiland wohl am vergleichbarsten sind, wurden unter dem Aspekt des Erlensterbens nur von Santini (2003) an 1-jährigen Erlen durchgeführt, wobei sich der Erkenntnisgewinn auf die Erfassung der Sterberate und der nekrotisierten Wurzelabschnitte begrenzte. Ökophysiologische und phytopathologische Untersuchungen zur Wirkung von *P. alni* auf die Rindengewebe/Rindenphotosynthese und damit dem primären Wirkort des Erregers sind bislang nicht durchgeführt worden. Im Mittelpunkt standen bei allen Untersuchungen stets die Blattorgane als eigentlich sekundäre Wirkorte.

Die wenigen Daten, die hinsichtlich der Stämme infizierter Schwarzerlen erhoben wurden, wurden hauptsächlich unter Laborbedingungen im Rahmen von Inokulationsversuchen erfasst. Daher sind die unter natürlichen Bedingungen im Freiland entstehenden Infektionsdynamiken in Rindengewebe noch weitgehend unbekannt bzw. nur mangelhaft untersucht.

Wenig Berücksichtigung fanden außerdem die verschiedenen Entwicklungsstadien von *Alnus glutinosa* im Kontext einer *P. alni*-Infektion. Gegenstand der meisten Untersuchungen waren Jungpflanzen oder adulte Bäume, während Samen, Keimlingen oder Blütenständen als generativen Organen kaum Beachtung geschenkt wurde.

2 Zielsetzung

Im Rahmen dieser Arbeit sollten im Wesentlichen die bisher existierenden ökophysiologischen und phytopathologischen Untersuchungen um weitere Aspekte, die zum Schwarzerlensterben führen, ergänzt werden, wobei dem Stammbereich als initialem Infektionsort besondere Berücksichtigung geschenkt wurde.

Ein wesentliches Ziel war es, neben der Ausbreitungsdynamik des Pathogens in den Rindengeweben dessen Einfluss auf die Rindenphotosynthese im Infektions- und Grenzbereich zu überprüfen.

Übergeordnet war außerdem die Einbeziehung verschiedener Altersstadien der Schwarzerle in die Untersuchungen. Dementsprechend wurde die Arbeit chronologisch aufgebaut und die Auswirkung von *Phytophthora alni* auf Samen (I) und Keimlinge (II) sowie auf das daran anschließende Jungpflanzenstadium (III) bis hin zur Einflussnahme auf den adulten, mannbaren Baum (IV) nachvollzogen. Das Bindeglied stellten die generativen Organe, nämlich Blüten- und Fruchtstände (V), dar (vgl. Abb. 3).

Entsprechend wurde die Auswirkung einer *Phytophthora alni*-Infektion zunächst bei Samen bzw. Keimlingen überprüft, die die jüngsten Erlenstadien darstellen.

Dazu wurden Analysen zur Keimfähigkeit von Samen erkrankter Erlen und deren anschließender Vitalität durchgeführt in Gegenüberstellung zur Keimfähigkeit von Samen, die erst zum Zeitpunkt der Keimung mit dem Pathogen konfrontiert wurden. Es galt letztlich herauszufinden, welche Auswirkungen der Erreger auf eine natürliche Verjüngung von Beständen hat.

Neben der Prüfung von Samen und Keimlingen sollten die Auswirkungen einer Infektion auf junge 2- bis 3-jährige Bäume untersucht werden.

In diesem Zusammenhang lag das Interesse in der Analyse der Reaktion von jungen, ausreichend mit Nährstoffen versorgten Bäumen auf eine Infektion im Stammbereich. Durch eine einfache Stamminokulation an diesen Erlen sollten die vertikale und axiale Ausbreitungsdynamik des Pathogens im Rindengewebe nachvollzogen sowie Informationen zu Photosyntheseparametern im Infektions-, Grenz- und Außenbereich der Infektionszunge gesammelt werden. Zusätzlich zur Verwendung

chlorophyllfluoreszenzanalytischer Methoden wurde der Gaswechsel am Stamm per Infrarot-Gasanalyse gemessen.

Zuletzt richtete sich der Fokus auf adulte Bäume. Es galt zu klären, inwiefern lokale Infektionen am Stamm die Photosyntheseaktivität von jungen Zweigen verändert, die im Frühjahr unter anderem für die Bereitstellung von Energie für den Blattaustrieb hinzugezogen werden.

Weiterhin sollte überprüft werden, wie schnell sich Infektionen tatsächlich im Stammgewebe ausbreiten können, wie sie sich auf die Physiologie der Gewebe auswirken und welche Faktoren schließlich am Absterben eines adulten Baumes beteiligt sein können.

Mit der Frage, wie sich *Phytophthora* bei erkrankten Erlen schließlich auf die Bildung der männlichen und weiblichen Blütenstände und damit auf die Sicherung der Fortpflanzung auswirkt, sollte schließlich der Bogen zu dem jüngsten Entwicklungsstadium der Schwarzerle gespannt werden.

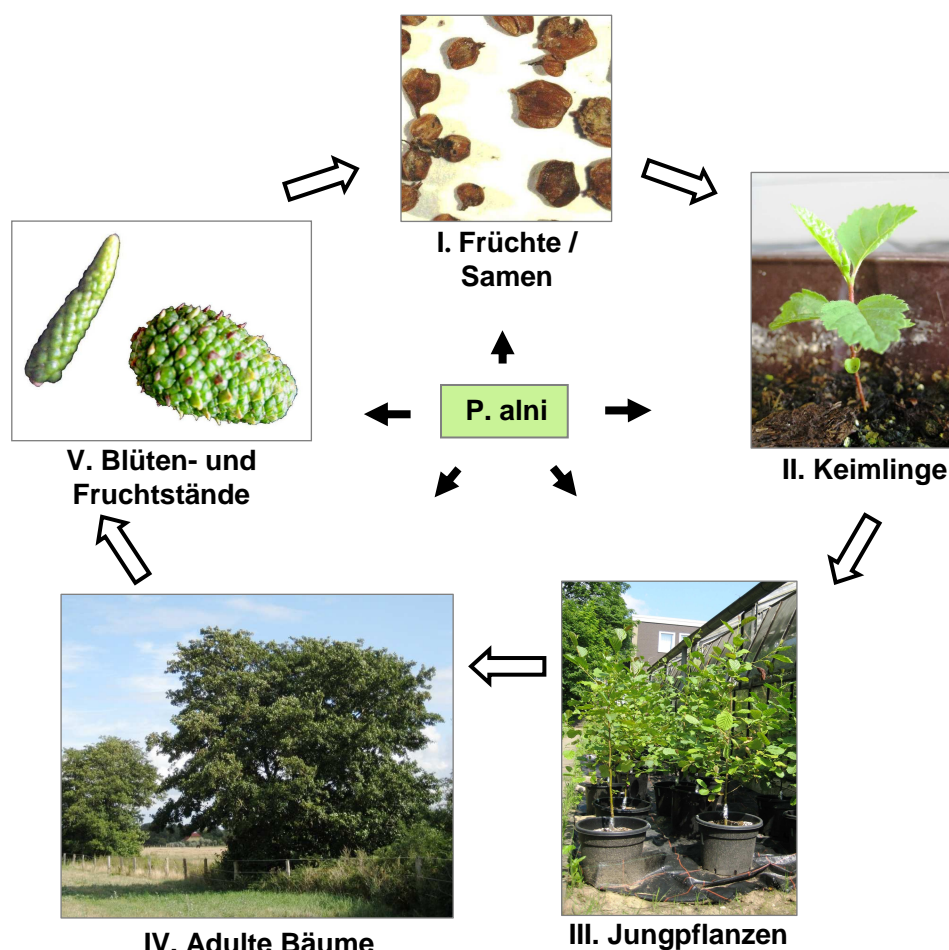


Abb. 3: Entwicklungszyklus von *Alnus glutinosa* vor dem Hintergrund von *P. alni*-Infektionen

3 Material und Methoden

3.1 Isolat ALN 405

Das in dieser Arbeit verwendete Isolat von *Phytophthora alni* subsp. *alni* (ALN 405) wurde vom Wissenschaftszentrum Weihenstephan der Technischen Universität München, Department für Ökologie, Fachgebiet Pathologie der Waldbäume zur Verfügung gestellt. Zur Isolation von *Phytophthora alni* fand zunächst die Entnahme des Pathogens an einer als infiziert eingeschätzten Schwarzerle über eine Rindenprobe am 8. Nov. 2003 in Haindlfing / Moos, Kreis Freising, Bayern statt. Zu diesem Zweck wurde ein etwa 12- bis 15-Jahre alter Baum beprobt, indem Rindenstücke aus den Randbereichen frischer Läsionen herausgeschnitten wurden. Diese Rindenstücke wurden zum Zweck des Auswaschens von Phenolen einige Tage in Leitungswasser aufbewahrt, um im Anschluss auf PARPNH-Selektivmedium ausgelegt zu werden (Brasier et al. 1999). Beim Auswachsen *Phytophthora*-artiger Hyphen wurden diese auf Nährmedium überimpft, zwei Wochen bei 19°C kultiviert und schließlich anhand morphologischer, physiologischer und genetischer Merkmale charakterisiert. Bei dem Isolat ALN 405 handelt es sich um die Unterart *Phytophthora alni* subsp. *alni*.

Selektivmedium zur Isolierung von *P. alni* (PARPNH-Medium / Hymexazol-Agar):

Gemüse-/Karottensaft	100 ml
CaCO ₃ , gefällt	3 g
Agar	16 g
H ₂ O _{dest}	650 ml

Bei 120°C und 1,3 atü 30min autoklavieren.

In 10 ml Ethanol 80 % lösen und mit 100 ml H₂O_{dest} auffüllen.

PCNB	10 µg
Pimaricin	5 ml
Ampicillin	250 µg
Rifampicin	100 µg
In 100 ml H ₂ O _{dest} lösen.	

Hymexazol (Tachygaren)	50 µg
In 100 ml H ₂ O _{dest} lösen.	

Nystatin (Mycostatin)	50 µl
-----------------------	-------

Autoklaviertes Agarmedium auf 40°C abkühlen lassen und mit gelösten Antibiotika auf einem Magnetrührgerät gut vermischen. Anschließend Selektivagarmedium mit einer Dosierhilfe auf Petrischalen abfüllen, 15 – 20 ml je Schale (bei einem Durchmesser von 9 mm).

Nährmedium (Karotten-Agar):

Karottensaft	100 ml
CaCO ₃	3 g
Agar	16 g
Ad 1 l H ₂ O _{dest}	

Bei 120°C und 1,2atü 30 min autoklavieren.

Vor dem Abfüllen in Petrischalen auf ca. 60 – 70°C abkühlen lassen.

Die Methodik und die Zusammensetzung der Medien sind von Clemenz (2007) übernommen.

3.2 Saatmaterial und Bodeninokulum

Das Saatgut für vergleichende Untersuchungen zur Keimfähigkeit von Samen *Phytophthora alni*-infizierter und optisch nicht infizierter Bäume wurde aus Karthaus (Dülmen, 51° 88 ' N, 7° 31 ' O, Kreis Coesfeld, vgl. Abb. 4) in Nordrhein-Westfalen bezogen. Es wurden dazu im März 2007 sechs mit *Phytophthora alni* infizierte und acht optisch nicht infizierte Schwarzerlen vergleichbaren Standortes beerntet. Die Nüsschen wurden aus den Zapfen ausgeschüttelt und aufgefangen.

Für die Infektionsversuche über Bodensubstrat (vgl. 3.6.5 und 4.2.3) wurde die Saat von der Samenklänge Elmstein bezogen. Es handelte sich dabei um im Jahr 2004 in Rheinland-Pfalz geerntete Erlensamen, die bei -3 bis -4°C eingefroren und zum Zeitpunkt des Erwerbs wieder aufgetaut und rückbefeuchtet wurden. Zum Prüftermin (14.11.2005, Keimprüfung von ISOGEN Göttingen im Institut für Forstgenetik) wurde eine Keimfähigkeit von 63 % und eine Samenfeuchte von 12,2 % ermittelt.

Zur Infektion der Keimlinge mit Myzel von *Phytophthora alni* subsp. *alni* über Bodensubstrat wurde das oben beschriebene Isolat ALN 405 verwendet.

3.3 Probenmaterial für Stamminfektionen an Topferlen

Für Stamminfektionsversuche wurden 20 Schwarzerlen (*Alnus glutinosa*) im Alter von etwa zweieinhalb Jahren verwendet, die aus eigener Anzucht aus Samen beprobter gesunder Schwarzerlen stammten. Die Erlen wurden im Außengelände des Instituts für Angewandte Botanik (Schuir) angezogen und im Hinblick auf die Infektionsversuche, die Mitte April durchgeführt wurden, einen Monat zuvor in das Außengelände des botanischen Gartens der Universität Duisburg-Essen überführt,

um eine Akklimatisierung hinsichtlich des Versuchsstandortes zu gewährleisten. Die Pflanzen befanden sich zu diesem Zeitpunkt bereits in 20 Liter fassenden Pflanzencontainern. Als Bodensubstrat wurde Topferde verwendet (FLORADUR, Typ B mittelgrob, Weißtorf-Tongemisch, pH 5,6). Zu Beginn der Wachstumsperiode 2008 sowie zu einem zweiten Termin im Juni wurden die Erlen mit Langzeitdünger (Osmocote) versorgt.

Die Erlen standen während des Untersuchungszeitraums im Schutz eines Gewächshauses (Nord-West-Seite), so dass sie sich im Mittel im Halbschatten befanden und eher unter dem Einfluss gemäßigter Temperaturen standen.

Zur Infektion der Erlen mit Myzel von *Phytophthora alni* subsp. *alni* durch Stamminokulation wurde ebenfalls Isolat ALN 405 verwendet.

3.4 Probenmaterial adulter Schwarzerlen und Freilanduntersuchungen

Das Probenmaterial für die Vergleichsuntersuchungen von *Phytophthora*-infizierten und optisch nicht infizierten Bäumen stammte ebenfalls aus Karthaus (vgl. 3.2 bzw. siehe Abb. 4). Dort wurden am Mühlenbach stehende Schwarzerlen je nach Fragestellung beerntet. Das Gebiet am Mühlenbach ist insgesamt deutlich durch *Phytophthora alni*-Infektionen gezeichnet, viele Erlen zeigen die in Kapitel 1.3 formulierten Symptome.

Die Freilanduntersuchungen an adulten Schwarzerlen fanden am gleichen Standort statt. Nach Überprüfung durch das Wissenschaftszentrum Weihenstephan der technischen Universität München, Department für Ökologie, Fachgebiet Pathologie der Waldbäume, sind die am Mühlbach lokalisierten Schwarzerlen von *Phytophthora alni* subsp. *alni* betroffen. Die Überprüfung fand über die Entnahme von Rindenproben an sechs Bäumen und die anschließende Selektion und Kultivierung des Pathogens statt (vgl. 3.1).

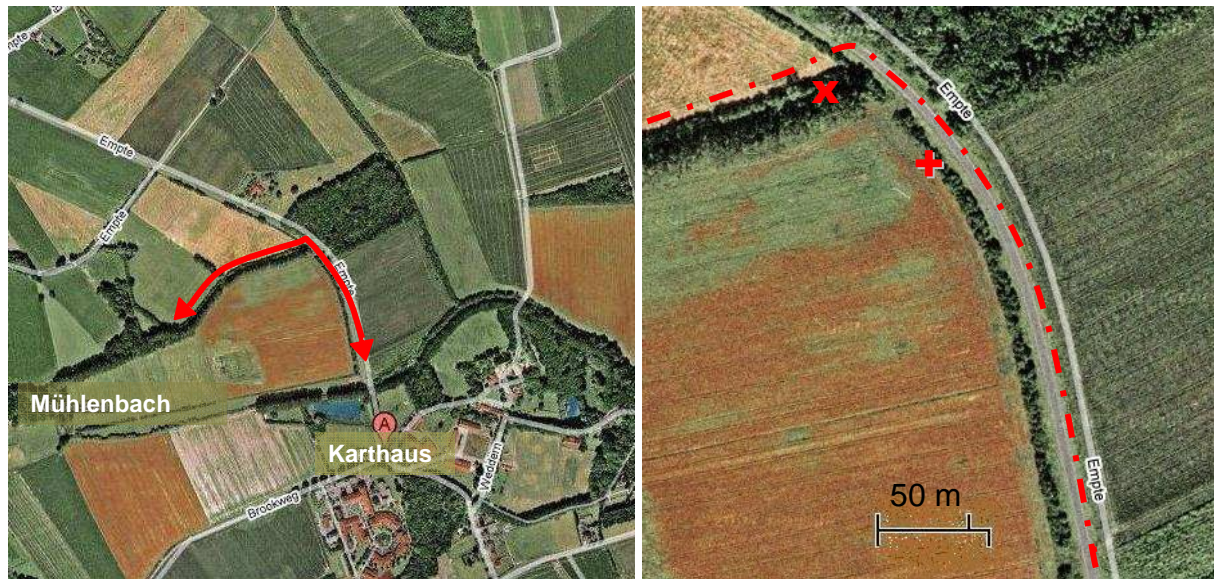


Abb. 4: Verbreitungsgebiet von *Phytophthora alni* via Wasserweg (Mühlenbach) in Dülmen – Karthaus; markiert sind das Beprobungsgebiet (Doppelpfeil und gestrichelte Linie) sowie der Standort der Schwarzerlen zur Überprüfung der Infektionsentwicklung (x) und der Gewebedestruktion (+) (ursprüngliche Quelle der Satellitenbilder, zu eigenen Zwecken ergänzt): <http://maps.google.de/> vom 21.05.09)

3.5 Grundlegende Messprinzipien und Analysemethoden

3.5.1 Chlorophyllfluoreszenzanalyse

Fluoreszenzanalytische Methoden bieten allgemein große Vorteile bei Untersuchungen bezüglich der Photosynthese, da sie non-invasiv und hoch sensitiv sind und in vielen Fragestellungen bzw. an einer großen Bandbreite an Objekten Verwendung finden.

Grundlagen

Es ist möglich, mit Hilfe der Chlorophyllfluoreszenz genaue Rückschlüsse auf die Quantenausbeute und den Elektronentransport eines Photosyntheseapparates und damit auf seinen Aktivitätszustand zu ziehen.

Das photosynthetische Pigmentsystem, dessen Hauptbestandteil das Chlorophyll-a - Molekül ist, absorbiert das eingestrahlte Licht und leitet dessen Energie an die Reaktionszentren weiter.

Durch diese Lichtenergie werden Elektronen eines getroffenen Chlorophyll-Moleküls von ihrem Grundzustand in einen Singulett-Anregungszustand (S) gehoben, der je nach Spektralbereich des Lichtes ein anderes Niveau hat. Kurzwelliges, blaues Licht versetzt Elektronen in einen höheren, energiereicheren Zustand (S_2) als langwelliges rotes Licht (S_1). Der höhere S_2 -Zustand ist aber entsprechend instabil, weshalb es

unter Wärmefreigabe zu einem sehr schnellen Zurückfallen in den S_1 -Zustand kommt. Der S_2 -Zustand kann, im Gegensatz zum S_1 -Zustand, nicht zur Gewinnung chemischer Energie genutzt werden.

Vom ersten Singulett kann die Anregungsenergie auf unterschiedliche Weise dissipiert werden (Gl. 1): durch Umwandlung in Wärme, durch Umsetzung in photochemische Arbeit oder durch Fluoreszenz (elektromagnetische Strahlung) (Schopfer und Brennicke 1999).

Die absorbierte Lichtenergie wird vom S_1 -Zustand aus aber hauptsächlich für photochemische Reaktionen verwendet.

Die eigentliche photosynthetische Energieumwandlung erfolgt erst an den Reaktionszentren (PS I und PS II) durch Ladungstrennung (Willert et al. 1995).

Die Fluoreszenz kann nur insofern für die Erfassung der Photochemie nutzbar gemacht werden, als dass die Beziehung zwischen Fluoreszenz und Photochemie auf dem Energieerhaltungsgesetz beruht. Daher gilt:

$$\text{Fluoreszenz} + \text{Photochemie} + \text{Wärme} = 1 \quad (\text{Gl. 1})$$

Empirischen Ergebnissen zufolge stammt gemessene Fluoreszenz fast nur aus dem im PS II lokalisierten Chlorophyll a. Es können daher auch nur direkte Aussagen über die Energienutzung und -dissipation des PS II gemacht werden.

Fluoreszenz hat für die photosynthetische Energieumwandlung eine ausgesprochen gute Indikatorfunktion, denn es besteht zwischen der Fluoreszenz und der photochemischen Quantenausbeute eine fundamentale Komplementarität, da die Fluoreszenz aus den gleichen Anregungszuständen stammt, die alternativ zur photosynthetischen Energieumwandlung genutzt werden kann. Die Chlorophyllfluoreszenz beträgt zwar nur 1 bis 3 % der eingestrahnten Energie, ist aber ein sensibler Indikator für alle sich ändernden Parameter innerhalb der Energieableitung in Pflanzen (Schreiber 1997). Der ausschließliche Bezug zu PS II spiegelt sich in Gl. 4 durch den Faktor 0,5 wieder, da nur die Quantenausbeute eines Photosystems berücksichtigt wird.

Die Messungen zur Ermittlung der Quantenausbeute und des Elektronentransports über Fluoreszenz funktionieren auf der Basis folgender Prinzipien:

Durch einen sättigenden Lichtimpuls auf eine dunkeladaptierte Probe werden zunächst alle PS II-Zentren kurzfristig geschlossen, so dass die Quantenausbeute von PS II zunächst auf Null gesetzt wird. Die einfallenden Photonen werden stattdessen maximal in Fluoreszenz und strahlungslose Dissipation (Wärmeabgabe) umgesetzt. Da die Dissipation nach Dunkeladaption allerdings minimal sein muss, wird von maximaler Fluoreszenz ausgegangen.

Die Fluoreszenzentwicklung beruht im Endeffekt auf einer Störung des Photosyntheseapparates: Nach Dunkeladaption und anschließender intensiver Belichtung (Sättigungspuls) laufen Elektronentransportketten, deren Moleküle und Reaktionszentren in „offenem“, oxidiertem Zustand vorliegen, nicht sofort an; die Reduktionsrate des primären PS II-Akzeptors Q_A ist anfangs höher als die Rate der Reoxidation durch Plastochinon und die Aktivität von PS I. Der resultierende Fluoreszenzanstieg reflektiert schließlich die Überlastung des PS II Akzeptor-Pools: Es kommt zu einem Energiestau, der sich in einer erhöhten Fluoreszenz äußert. Es dauert einige Minuten, bis alle Komponenten optimal synchron arbeiten und die Chlorophyllfluoreszenz auf einen Bruchteil des Ausgangswertes zurückgegangen ist (Schreiber et al. 1994, Schreiber 1997).

Über die Messung der Fluoreszenz kann die maximale Quantenausbeute des PS II nach folgender Formel bestimmt werden:

$$F_v / F_m = (F_m - F_o) / F_m \quad (\text{Gl. 2}),$$

wobei F_o die minimale Fluoreszenzausbeute nach Dunkeladaption und F_m die maximale Fluoreszenzausbeute darstellt; letztere wird durch einen Sättigungspuls induziert. F_v ist die variable Fluoreszenz, die sich aus der Differenz von F_m und F_o errechnet.

F_v/F_m steht schließlich für die maximale Quantenausbeute des PS II.

Im lichtadaptierten Zustand ist F_m' als die maximale Fluoreszenzausbeute definiert. Diese fällt gegenüber F_m geringer aus, da F_m' gegenüber F_m durch eine erhöhte Dissipation erniedrigt wird. Über die im lichtadaptierten Zustand gemessene Fluoreszenz kann die effektive Quantenausbeute berechnet werden:

$$\Delta F / F_m' = (F_m' - F_t) / F_m' \quad (\text{Gl. 3}),$$

wobei F_t mit dem momentanen Messwert der Fluoreszenzausbeute gleichzusetzen ist. $\Delta F / F_m'$ (Yield) ist das Äquivalent zu F_v / F_m bei lichtadaptiertem Zustand und bedeutet die effektive Quantenausbeute von PS II einer belichteten Probe.

Die effektive Quantenausbeute (Yield) ist gegenüber der maximalen Quantenausbeute erniedrigt durch die Zunahme der strahlungslosen Dissipation und aufgrund der Tatsache, dass die Reaktionszentren zum Teil im „geschlossenen“, reduzierten Zustand vorliegen.

Auf der Basis der berechneten effektiven Quantenausbeute (Yield), der eingestrahlten Lichtmenge (Photosynthetically Active Radiation, PAR) und einem Absorptionskoeffizienten (Abs) lässt sich die apparente Elektronentransportrate (ETR) berechnen:

$$ETR = \Delta F / F_m' \cdot PAR \cdot 0,5 \cdot Abs \quad (\text{Gl. 4})$$

Chlorophyll-Fluorometer

Die verwendeten Chlorophyll-Fluorometer funktionieren nach dem Puls-Amplituden-Modulations-Messprinzip (PAM-Messprinzip, schematisch dargestellt in Abb. 5). Um zwischen der Fluoreszenz und anderen Lichtsignalen unterscheiden zu können, kann das Anregungslicht moduliert werden.

Beim PAM-Messprinzip wird die Fluoreszenz des zu untersuchenden Objekts durch kurze, wenige Mikrosekunden dauernde Lichtimpulse amplitudenmodulierten Schwachlichts einer lichtemittierenden Diode (LED), die eine Peak-Wellenlänge von 655 nm aufweist, angeregt. Die Pulse werden in Frequenzen von 1,6 oder 100 kHz abgegeben. Ein nachgeschalteter Kurzpassfilter befreit das Rotlicht von seinem langwelligen Anteil. Die angeregten Fluoreszenzpulse werden von einem Photodetektor, der von einem Langpassfilter vor kurzwelligem Streulicht geschützt wird, registriert. Die Fluoreszenzpulse werden vorverstärkt, um anschließend durch einen hochselektiven Verstärker endverstärkt zu werden. Dieser unterdrückt alle Hintergrundsignale und erfasst nur die Signalerhöhungen, die synchron mit den

Messpulsen sind, da er von demselben Taktgeber gesteuert wird, der auch die LED taktet (Willert et al. 1995).

Nach diesem Prinzip können die Messsignale von überlagernden Lichtsignalen getrennt werden. Daher kann die Fluoreszenz je nach Fragestellung sowohl durch Starklicht beliebiger Wellenlänge und Intensität sowie auch durch Weißlicht oder Sonnenlicht ausgelöst und gemessen werden. Es reichen bereits Messpulse von geringer Intensität, um trotzdem noch zuverlässig die Fluoreszenzausbeute messen zu können, was eine Bestimmung der Dunkelfluoreszenz oder Grundfluoreszenz ermöglicht (Willert et al. 1995).

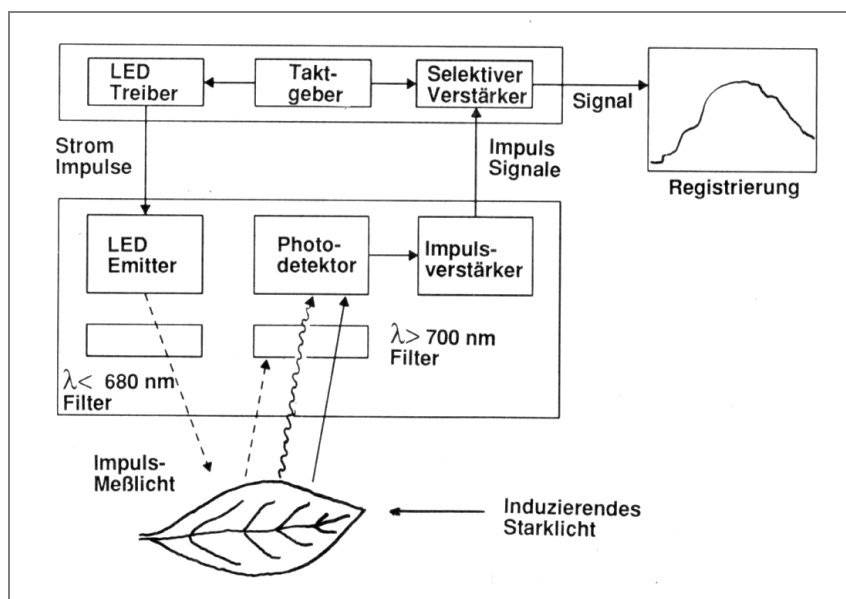


Abb. 5: PAM-Fluorometer Heinz Walz GmbH, Effeltrich (Quelle: Willert et al. 1995)

Imaging PAM, PAM-2000, PAM-201 (Teaching PAM)

Je nach Versuchsaufbau und Anforderung an die Messtechnik wird die Chlorophyllfluoreszenz mit unterschiedlichen Messgeräten erfasst.

Beim Imaging PAM Chlorophyll Fluorometer wird die Fluoreszenz durch einen Sättigungspuls im Blaulicht bzw. durch blaues pulsmulierendes Messlicht angeregt, für die Bewertung der Absorption der einfallenden photosynthetisch relevanten Strahlung hingegen werden die Proben mit Nahinfrarot- (NIR-) und Infrarotlicht bestrahlt. Die Imaging PAM erfasst die Absorption des Pflanzengewebes im roten (RED) und nahen Infrarotbereich. Daraus lässt sich über die Beziehung

Abs. = $1 - \text{RED/NIR}$ der Absorptionskoeffizient (Abs) berechnen. Eine CCD-Kamera ermöglicht darüber hinaus eine Video-Bildanalyse.

Das beschriebene Fluorometer wird hauptsächlich für die Messung von Blattproben und weniger zu Messungen an Stämmen oder Ästen eingesetzt, da Blaulicht von verkorkten Abschlussgeweben absorbiert wird (Wittmann et al. 2005, Manetas 2004) und das auf die Rinde treffende Signal in der Folge in den meisten Fällen zu gering ist. Absorptionsmessungen hingegen sind aufgrund der Anregung durch Rotlicht möglich (WALZ Manual 2003).

Absorption ist theoretisch im Rahmen zwischen 0 bis 100 % messbar (Absorptionskoeffizienten werden zwischen 0 und 1 eingeordnet) und wird in Anlehnung an die unten dargestellte Skala visualisiert, wobei sowohl bei Blatt- als auch bei Rindengeweben eine maximale Absorption (100 %) nicht erreicht wird.



Die Standard-PAM Fluorometer (PAM-2000, PAM 201) bieten nicht die Möglichkeit der Erfassung von Bildern und der Messung über eine Fläche, eignen sich jedoch aufgrund ihrer Pulsmodulation im Rotlicht für die Erfassung von rindenphotosynthetischen Aktivitäten. Im Wesentlichen wurde zwischen den beiden Standard-Fluorometern in Abhängigkeit von der Stärke der Messfehler gewählt.

3.5.2 CO₂/H₂O-Gaswechsellmessungen

Parallel zueinander laufen photosynthetischer Gaswechsel und respiratorischer Gaswechsel ab, die sich durch die Richtung ihres Gasaustausches unterscheiden. Letztlich macht sich der Gaswechsel bemerkbar, der gegenüber dem anderen überwiegt. Er ist ein Maß für die Netto-Photosynthese. Durch Messungen des Gaswechsels lässt sich daher die Netto-Photosyntheseleistung von Pflanzen bestimmen.

Messprinzip

Mit entsprechenden Gaswechsellmessanlagen können die Photosynthese und die Transpiration intakter Pflanzenteile oder gesamter Pflanzen bestimmt werden.

Die Messung der CO₂- und H₂O-Abgabe von Pflanzen geschieht mittels Infrarot-Gasanalyatoren (IRGA).

Diese arbeiten auf der Grundlage der Absorptionsspektren der jeweiligen Gase im Infrarotlicht-Bereich. Während H₂O im Infrarotlicht-Bereich bei 2,59 µm Wellenlänge ein Absorptionsmaximum aufweist, liegt das Absorptionsmaximum von CO₂ bei 4,1 µm. Über die Extinktion des Lichtes nach Durchgang durch den Messbereich kann nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz (Gl. 7) die Konzentration des entsprechenden Gases bestimmt werden.

Gaswechsellmessanlage LI-6400

Zur Messung der Photosyntheseraten wurde die Anlage LI-6400 der Firma LI-COR (LI-COR, Inc., Lincoln, USA) verwendet, die auf der zur Zeit gebräuchlichsten Methode der H₂O /CO₂-Gaswechsellmessung beruht. Die Nettophotosyntheserate wird dabei in Form einer CO₂-Umsatzrate wiedergegeben. Es handelt sich bei ihr um ein offenes Messsystem, bei dem ein definierter Luftstrom (Flussrate) in die Messkammer geleitet wird. Beim LI-6400 lassen sich neben der Flussrate die CO₂-Konzentration, die Luftfeuchte, die Temperatur und die Lichtstärke in der Messkammer definiert einstellen (Standardausrüstung mit Blattkammer).

Zum Zweck von Gaswechsellmessungen an Zweigen und Stämmchen wurde allerdings die Blattkammer gegen ein ‚Li-6400 Conifer Chamber‘ beziehungsweise eine nach gleichem Prinzip konzipierte Astkammer ausgetauscht, in die jedoch weder eine Lichtquelle noch ein PAR-Sensor integriert sind.

In das ‚Li-6400 Conifer Chamber‘ können Zweige von 5 cm Länge eingespannt und zur Umgebung abgedichtet werden (die ähnlich konstruierte Astkammer fasst Äste oder Stämmchen von 6 cm Länge und von 3,5 cm Durchmesser). Da es im Gegensatz zum Standardsensorkopf keinen PAR-Sensor und keine Lichtquelle enthält, wurde eine externe Lichtquelle (Halogenlampe) hinzugezogen, die mittels eines Stativs senkrecht oberhalb des Conifer Chambers installiert wurde, und das in die Kammer einfallende Licht mit eines PAR-Sensors (Quantitherm Light Meter, H,Saur) manuell gemessen. Dies ist möglich, da es sich beim ‚Conifer Chamber‘ um

eine durchsichtige Plexiglas-Konstruktion handelt. Entsprechend der gewünschten Lichtintensität wurde die Entfernung der Lichtquelle angepasst.

Ansonsten enthält der Sensorkopf thermoelektrische Peltier-Elemente zur Regelung der Temperatur sowie einen Ventilator, der durch Erzeugung turbulenter Strömungen die Grenzschichten an Probenoberflächen reduziert. Während einer Messung werden permanent die Kammertemperatur, die CO₂-Konzentration sowie die H₂O-Konzentration erfasst.

Über die Konsole des Li-6400 werden die einzelnen Parameter geregelt und eingestellt.

Die von außen angesaugte Luft wird zunächst in einer Kammer von CO₂ gereinigt, um anschließend über eine CO₂-Kartusche wieder mit einer definierten Menge CO₂ zwecks Einstellung einer vorgegebenen CO₂-Konzentration versetzt zu werden.

Es folgt das Einleiten des Luftstroms in eine Kammer mit Trockenmittel, um diesen von H₂O zu befreien. Mit Hilfe von Massendurchflussreglern wird im Luftstrom eine definierte H₂O-Konzentration erzeugt. Zuletzt wird die Stärke des Luftstroms geregelt, bevor dieser in den Sensorkopf eingeleitet wird. 75 % des Luftstroms gelangen in die Beprobungskammer, die restlichen 25 % werden in eine Referenz-Kammer geleitet.

Die Konzentrationen von H₂O und CO₂ werden in beiden Kammern gemessen; aus der Differenz der Messergebnisse ergeben sich die Nettophotosynthese und die Transpirationsrate des in den Sensorkopf eingespannten Pflanzenmaterials.

Die Bruttophotosynthese (Ph_B) kann mit dem LI-6400 nicht gemessen werden, kann aber näherungsweise berechnet werden (Larcher 2001) über die Addition der Nettophotosyntheserate oder apparenten Photosyntheserate (Ph_N) [$\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$] und dem Betrag der Respiration (|R|) [$\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]:

$$\text{Ph}_B = \text{Ph}_N + |R| \quad (\text{Gl. 5})$$

3.5.3 Bestimmung von Chlorophyllgehalten

Bestimmt wurden die Pigmentgehalte der Blätter von Keimlingen von *Alnus glutinosa* zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Aussaat.

Weiterhin wurden *Phytophthora*-infizierte und nicht infizierte Erlenzweige (0-jährig und 1-jährig) hinsichtlich ihrer Chlorophyllgehalte beprobt, wobei sowohl die Pigmente der Rinde als auch des Holzkörpers ermittelt wurden.

Die Methode der destruktiven Bestimmung des Chlorophyll- und Carotinoidgehalts von Pflanzenorganen gliedert sich in die Extraktion der Pigmente aus dem Pflanzenmaterial und in die Messung der Lichtabsorption des Extraktes am Spektralphotometer.

Zu diesem Zweck wurden aus den Keimlingsblättern von *Alnus glutinosa* mit einem Korkbohrer (0,5 cm Durchmesser) Blattflächen von etwa 0,19635 cm² (Gl. 6) ausgestanzt, anschließend folgte eine Bestimmung des jeweiligen Frischgewichtes.

$$\text{Blattfläche[cm}^2\text{]} = \pi r^2 = \pi \cdot (0,25\text{cm})^2 \approx 0,19635\text{cm}^2 \quad (\text{Gl. 6})$$

Bei einigen Blättern wurde alternativ auf das Ausstanzen einer definierten Blattfläche verzichtet, wenn die Blättchen keine ausreichende Größe aufwiesen. In letzterem Fall wurde das Gesamtblatt verwendet und die Fläche mit einem Blattflächenmessgerät des Typs AREA METER AM100 (ADC, Hoddesdon, England) bestimmt.

Zur Bestimmung der Chlorophylle von 0- und 1-jährigen Zweigen wurden jeweils die Frischgewichte von Holz- und Rindenabschnitten ermittelt sowie der Durchmesser des Zweigs und die Höhe des verwendeten Zweigabschnitts. Aus diesen Werten konnten zu den extrahierten Pigmenten zusätzlich Flächenbezüge für die Rinde hergestellt werden. Zusätzlich wurde die Dicke der Rinde vermessen, um unter Umständen einen Volumenbezug herstellen zu können.

Die Blättchen, Holz- und Rindenkörper wurden als Vorbereitung auf die Extraktion mit einem Skalpell zerkleinert.

Pigmentextraktion in DMSO (= Dimethylsulfoxid)

Jede Blatt- oder Zweigprobe wurde einem 2 ml - Eppendorf-Gefäß zugeführt und mit einer Spatelspitze Magnesiumhydroxidcarbonat $[\text{Mg}(\text{OH})_2 \cdot \text{MgCO}_3]$ versetzt, was zur Auspufferung freier Protonen dient, die ansonsten Chlorophyll zu Phaeophytin umsetzen würden. Anschließend wurde 1,6 ml Extraktionslösung (DMSO) hinzugefügt.

Die Extraktion fand im Wasserbad bei 65°C statt, wobei die Entfärbung des Pflanzenmaterials nach ungefähr 120 min abgeschlossen war. Die Extrakte wurden in Messküvetten pipettiert und am Spektralphotometer gemessen.

Messung der Lichtabsorption des Extraktes am Spektralphotometer

Die Messung am Spektralphotometer beruht auf dem Vorliegen von Absorptionsmaxima der zu bestimmenden Pigmente. In DMSO liegen die Absorptionsmaxima bei 665 nm und 649 nm für die Chlorophylle a und b und bei 480 nm für die Carotinoide (Wellburn 1994).

Die Messungen sind unter Berücksichtigung des Lambert-Beer'schen Gesetz durchzuführen (Gl. 7), was bedeutet, dass eine Überlagerung von Pigmenten in der Küvette vermieden werden sollte, da es ansonsten zu einer Unterbewertung der Pigmentdichte kommen kann. Eine lineare Abhängigkeit der Lichtabsorption von der Konzentration des zu bestimmenden Pigments ist nur bei verdünnten Lösungen gegeben. Einer Überlagerung ist daher durch ausreichende Verdünnung entgegenzuwirken. Wird eine Absorption $(A) > 0,9$ gemessen, kann von einer Pigmentüberlagerung ausgegangen werden (Ronen und Galun 1984).

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot d \quad (\text{Gl. 7})$$

A = Absorption

ε = stoffspezifische Absorptionskonstante

c = Konzentration der Messlösung [mol/L]

d = Küvettendicke [cm]

Die Probenküvetten mit den Extrakten werden bei der Messung immer mit einer Referenzküvette verglichen, die reines Lösungsmittel enthält. Aus der gemessenen Differenz ergibt sich die Absorption durch die jeweiligen Pigmente.

Neben den Messungen der Absorptionen bei 665, 649 und 480 nm wird durch Messung der Lichtabsorption bei 750 nm der Trübungsgrad des Extraktes ermittelt. Bei 750 nm handelt es sich um eine Wellenlänge, die außerhalb des Absorptionsspektrums der Pigmente höherer Pflanzen liegt und somit auf das Vorliegen anderer Licht absorbierender Stoffe in der Lösung hinweist. Ist der Trübungsgrad $> 0,01$, ist eine Zentrifugation des Extraktes notwendig.

Alle Messungen wurden mit dem Photometer Shimadzu UV 160 durchgeführt.

Die nachstehenden Formeln von Wellburn (1994) dienen der Berechnung der Chlorophyll- und Carotinoidgehalte:

$$\text{Chlorophyll a } [\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \text{ Extrakt}] = 12,19 \cdot A_{665} - 3,45 \cdot A_{649} \quad (\text{Gl. 8})$$

$$\text{Chlorophyll b } [\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \text{ Extrakt}] = 21,99 \cdot A_{649} - 5,32 \cdot A_{665} \quad (\text{Gl. 9})$$

$$\begin{aligned} &\text{Gesamtcarotinoide } [\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \text{ Extrakt}] \\ &= (1000 \cdot A_{480} - 2,14 \cdot \text{Chl a} - 70,16 \cdot \text{Chl b}) / 220 \end{aligned} \quad (\text{Gl. 10})$$

Die nach den Gleichungen 8 bis 10 berechneten Pigmentgehalte der Extrakte können unter Berücksichtigung der Blattfläche oder des Frischgewichtes sowie der Lösungsmittelmenge in den Pigmentgehalt des Pflanzenorgans / m^2 Fläche oder den Pigmentgehalt des Pflanzenorgans / g Pflanzenmaterial umgerechnet werden:

$$\begin{aligned} &(\text{Extraktgehalt } [\mu\text{g/ml}] \cdot \text{Lösungsmittelmenge } [\text{ml}] / \text{Fläche } [\text{m}^2]) / 1000 \\ &= \text{Pigmentgehalt } [\text{mg/m}^2 \text{ Fläche}] \end{aligned} \quad (\text{Gl. 11})$$

$$\begin{aligned} &\text{Extraktgehalt } [\mu\text{g/ml}] \cdot \text{Lösungsmittelmenge } [\text{ml}] / \text{Einwaage } [\text{mg}] \\ &= \text{Pigmentgehalt } [\text{mg/g Frischgewicht}] \end{aligned} \quad (\text{Gl. 12})$$

Mit den Ergebnissen lässt sich der Gesamtchlorophyllgehalt sowie das Verhältnis der Chlorophylle a und b berechnen.

3.5.4 Transmissionsmessungen an Zweigen und Stämmen

Die Transmissionsmessungen wurden mit einem Spektrometer (Ocean Optics USB spectrometer, HALMA GROUP COMPANY) durchgeführt, ausgerüstet mit der entsprechenden Spektroskopie-Software (Ocean Optics SpectraSuite). Als Lichtquelle diente eine Halogenlampe. Sich verändernde Lichtverhältnisse machten vor den Messungen eine Kalibrierung des Programms hinsichtlich sich verändernder Lichtverhältnisse notwendig.

Gemessen wurde die Transmission durch das Periderm, durch die Rinde und durch Periderm und Rinde. Dazu wurden die entsprechenden Komponenten einzeln bzw. im Verband gepeelt. Dazu wurde das Periderm vorsichtig unter Verwendung einer scharfen Klinge von der Rinde abgelöst bzw. wurden Periderm und Rinde gemeinsam vom Holzkörper abgetrennt. Das Trennen der verschiedenen Gewebe voneinander ist am besten umsetzbar, wenn deren Zellteilungsaktivität am höchsten ist. Die Komponenten wurden schließlich plan über der Messfiber positioniert.

Die Transmission wurde im Rahmen des photosynthetisch aktiven Lichtes zwischen 400 und 800 nm erfasst; dargestellt wurde die Transmission in Prozent.

Die Transmissionskurven zwischen 400 und 800 nm konnten mittels der Software direkt integriert werden, so dass die durchschnittliche Transmission leicht ermittelt werden konnte.

3.6 Versuchsreihen

3.6.1 Zapfen - Anatomische und physiologische Aspekte

3.6.1.1 Gewichts- und Größenbestimmung

Die Zapfen zu diesen Messungen stammten aus Karthaus (vgl. 3.4) und wurden im März 2007 gesammelt. Die Gewichte dieser Zapfen nicht infizierter ($n = 346$) und *Phytophthora alni* infizierter ($n = 499$) Schwarzerlen wurden gravimetrisch bestimmt. Dazu wurden im Vorfeld die Samen möglichst vollständig herausgeschüttelt, was zu diesem Zeitpunkt aufgrund des fortgeschrittenen Entwicklungsstadiums der Zapfen gut zu realisieren war. Weiterhin wurden die Zapfen etwa eine Woche einschichtig in offenen Schalen gelagert, um mögliche Restfeuchte zu verlieren.

Die Längen und Durchmesser der Zapfen ($n = 343$ und $n = 500$) wurden zwecks Größenbestimmung mittels einer elektronischen Schieblehre in mm gemessen.

Neben der Bestimmung des Trockengewichts wurden im August 2008 die Frischgewichte von grünen, geschlossenen Zapfen optisch nicht infizierter Schwarzerlen (n = 78) sowie deutlich infizierter Bäume (n = 81) aufgenommen.

3.6.1.2 Pigmentgehalt, aktueller Wassergehalt, Chlorophyllfluoreszenz – physiologische Aspekte

Die im August 2008 geernteten grünen Zapfen wurden außerdem hinsichtlich ihrer photosynthetischen Aktivität überprüft. Dazu wurden mit der Imaging PAM Lichtkurven und Absorption von Zapfen nicht infizierter und infizierter Erlen erfasst (n = 22 und n = 23). Zusätzlich fand im Anschluss eine Gewebeentnahme zwecks der Pigmentanalyse der äußeren Zapfenbereiche statt.

Die übrigen unbeschädigten Zapfen wurden drei Tage im Trockenschrank bei 50° gelagert und im Anschluss nochmals gewogen, um den aktuellen Wassergehalt zu bestimmen. Ausgedrückt wurde dieser relativ zum Frischgewicht (Gl. 13).

$$[\% \text{ FG}] = [(\text{FG} - \text{TG}) / \text{FG}] * 100 \quad (\text{Gl. 13})$$

3.6.2 Kätzchen - Anatomische und physiologische Aspekte

Die Datenerhebung bezüglich der anatomischen und physiologischen Aspekte von Erlenkätzchen wurde an die der Zapfen angeglichen.

Die Kätzchen für die chlorophyllfluoreszenzanalytischen Untersuchungen und die Pigmentbestimmung wurden zeitgleich mit den Zapfen im August 2008 geerntet. Zu diesem Zeitpunkt waren die Kätzchen noch grün, befanden sich in ihrer Aufbauphase und wurden entsprechend als photosynthetisch hoch aktiv eingeschätzt. Die Gewichts- und Größenbestimmung fand an Material statt, was erst im Dezember 2008 geerntet wurde.

Das Frischgewicht bezieht sich im Fall der Kätzchen auf den Blütenstand im voll entwickelten Zustand, in dem es zu keinen Zuwächsen mehr kommt und der geschlossene Blütenstand bereits durch Anthocyane rötlich-braun verfärbt ist. Die Ernte fand dementsprechend im Winter vor dem Aufblühen der Kätzchen statt.

3.6.3 Gewichts- und Größenbestimmung von Samen

Bei den Samen, die gravimetrisch und zweidimensional untersucht wurden, handelte es sich um die der im Münsterland gesammelten Zapfen.

Im Folgenden wird die Bezeichnung Samen beibehalten, obwohl es sich bei den Diasporen der Erlen um Nussfrüchte handelt. Der Begriff soll in diesem Rahmen aber in funktionellem Sinne verwendet werden stellvertretend für die Ausbreitungseinheit. Wie die Zapfen wurden die Samen für einige Tage bei Zimmertemperatur in offenen Schalen gelagert und täglich durchmischt, um ihre Restfeuchte zu minimieren.

Zur gravimetrischen Bestimmung wurden die Samen portionsweise gewogen, der Messwert wurde anschließend durch die Anzahl der gemessenen Samen dividiert.

Es wurden so die Gewichte von 1003 Samen nicht infizierter Erlen und 1057 Samen infizierter Erlen ermittelt.

Bezüglich der Größe wurde die Breite der Samendraufsicht gemessen. Dazu wurden 198 Samen symptomfreier Erlen und 200 Samen infizierter Erlen auf Millimeterpapier gelegt und darauf mit einem durchsichtigen Klebeband fixiert. Die so präparierten Papierbögen wurden im Anschluss eingescannt.

Mit dem Programm 'UTHSCSA Image Tool' (Version 3.0, University of Texas, Health Science Center, San Antonio, U.S.A.) konnten die Samenbreiten markiert und die Strecken in Pixel gemessen werden. Bei einer entsprechend ausreichenden Vergrößerung wurde die Pixelzahl pro cm ermittelt und die Samenbreiten konnten per Dreisatz berechnet werden.

3.6.4 Vitalitätsprüfung von Samen optisch gesunder und *P. alni*-infizierter Erlen

Zur Überprüfung der Lebensfähigkeit und Qualität von Samen sind Aussaat-Tests eine übliche Methode. So sind Kenntnisse bezüglich des Keimprozents notwendig, sowohl um Aussaatmengen zu bestimmen als auch um Lagerungskonditionen auszuloten. Da die bei Keimungstests erzielten Resultate sowohl von äußeren Faktoren als auch vom verwendeten Saatgut abhängig sind, ist es essentiell, in dieser Untersuchung die äußeren Faktoren sowie die Prozedur der Aussaat einheitlich zu gestalten, um Aufschluss über die Qualität des Saatgutes zu erhalten.

Als Medium wurde ein Gemisch aus Einheitserde (Typ 0, Weißtorf-Tongemisch, pH 6,5) und Quarzsand in den Anteilen 8:2 verwendet. Dieses wurde 2h bei 120°C

autoklaviert, um die Wahrscheinlichkeit von Fremdinfectionen möglichst gering zu halten.

Von den infizierten und nicht infizierten Bäumen wurden jeweils 500 Samen ausgesät, 125 pro Pflanzschale (50 cm * 32 cm). Die Saatschalen wurden im Weiteren in drei Kompartimente nach dem Muster ‚vorne‘ (25 Samen), ‚Mitte‘ (50 Samen), ‚hinten‘ (50 Samen) eingeteilt. Dies geschah zwecks der Beobachtung, ob sich die Pflanzen in den Schalen gleichmäßig entwickeln oder ob es aufgrund eventueller unterschiedlicher klimatischer Verhältnisse in der Klimakammer (Luftumwälzung, Temperatur- und Lichtintensität) zu unterschiedlichen Entwicklungen der Keimlinge kommt. Als zusätzliche Maßnahme wurden die Schalen von Keimlingen gesunder Bäume und infizierter Bäume jeweils abwechselnd aufgestellt, um eventuelle klimatische Unterschiede in der Kammer als einen beeinflussenden Faktor ausschließen zu können.

Die Aussaat fand am 11.04.07 statt. Zu diesem Zweck wurden die Samen ungefähr zwei Tage bei Zimmertemperatur (ca. 20°C) in einer wassergefüllten Schale vorgequollen. Das Erdgemisch wurde gut durchnässt in die Saatschalen gefüllt und die mit Zellstoff oberflächlich abgetrockneten Samen in gleichmäßigen Abständen auf die Erdoberfläche aufgebracht.

Die Saatschalen wurden während der Anzuchtzeit mit Plastikabdeckungen versehen, die zum einen vor Austrocknung und zum anderen durch leichte Mattierung für eine Abschwächung der Lichtintensität sorgten.

Die Keimlinge wurden in einer Klimakammer mit Tag- und Nachtwechsel (12h Belichtung / 12h Dunkelheit) kultiviert, wobei die Keimlinge zur Belichtungszeit mit 350 bis 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ unter der Abdeckung konfrontiert waren. Belichtet wurde mit Hochdruck-Natriumdampf-Lampen des Typs SONTAGRO 400W.

Die Temperatur bewegte sich zwischen 18°C „am Tag“ und 15°C „nachts“, die Luftfeuchte wurde bei 70 % eingeregelt.

Die Schwarzerle gilt als häufig schlecht keimend, weshalb eine Vielzahl von Vorbehandlungsmöglichkeiten sowie optimale Keimungstemperaturen an den Samen überprüft wurden; die Unterschiede bezüglich der Vorbehandlungen verschwanden zwischen 18 – 23°C allerdings weitgehend (De Atrip et al. 2007), so dass die gewählte Vorgehensweise sich nicht wesentlich auf das Keimresultat auswirken dürfte.

Die Keimlinge bzw. Jungpflanzen wurden 4- bis 5-mal wöchentlich mit Leitungswasser besprüht oder gegossen.

Ab dem Datum der ersten Keimung (19.04.07) wurden die Keimlinge zweimal wöchentlich gezählt. Die Auszählungen wurden solange durchgeführt, bis sich die Keimungsrate nicht mehr veränderte.

Neben der Bestimmung der Keimungsrate wurden acht Wochen nach der Aussaat an jeweils 63 Keimlingen nicht infizierter und 44 Keimlingen infizierter Erlen die Keimlingsgrößen (Sprosshöhe in cm ab Substratebene bis zur Spitze) sowie die Blattzahl n pro Pflanze bestimmt.

Zehn Wochen nach der Aussaat wurden außerdem an jeweils zehn Keimlingen Chlorophyllfluoreszenzmessungen zur Analyse der Photosyntheseaktivität durchgeführt und Blattpigmentgehalte ermittelt (vgl. 3.5.1 und 3.5.3). Für die Messung der Photosyntheseparameter ist im Falle der Keimlingsblätter das Fluorometer Imaging PAM verwendet worden, mit dem Lichtkurven und Absorptionskoeffizienten berechnet wurden.

Die Analysen wurden am ersten Laubblatt, das auf die Keimblätter folgt, vorgenommen.

Weiterhin wurden die Gesamtblattflächen der einzelnen Pflanzen mit einem Blattflächenmessgerät des Typs AREA METER AM100 (ADC, Hoddesdon, England) in mm^2 bestimmt sowie die Blattzahl n und das Frischgewicht der Blätter in g.

Es wurden zudem die Blattfläche pro Pflanze in mm^2 und die Durchschnittsfläche pro Blatt in mm^2 berechnet.

17 Wochen nach der Aussaat wurden wiederum an zehn Keimlingen die Blattzahl pro Pflanze, die Blattfläche pro Pflanze in mm^2 , die Chlorophyllgehalte und die Photosyntheseaktivitäten untersucht, um die weitere Entwicklungstendenz der Keimlinge zu dokumentieren.

3.6.5 Infektionsversuche über Bodensubstrat

In Anlehnung an das Aussaatexperiment mit Samen infizierter und nicht infizierter Schwarzerlen wurde auf vergleichbare Weise eine Aussaat mit Verwendung von *Phytophthora alni* subsp. *alni* enthaltendem Bodeninokulum angelegt. Für die

Kontrollaussaat wurde steriles Bodensubstrat verwendet, was, mit Ausnahme des Pathogens, die gleiche Zusammensetzung aufwies wie das Inokulum.

Das Bodenbeimungssubstrat setzte sich zusammen aus 500ml Vermiculit, 40ml Weizenkörnern und 350ml Gemüsesaftmischung. Nach der Sterilisation durch Autoklavieren wurden dem Inokulum 30 Myzel-Agarplugs mit *P. alni* subsp. *alni* (ALN 405) hinzugefügt. Die Glasgefäße wurden anschließend mit Parafilm verschlossen und ungefähr eine Woche im Dunkeln bei 20°C inkubiert.

Als Grundmedium für die Aussaat wurde ein Gemisch aus Topferde und Quarzsand (8:2) verwendet.

Das Inokulum sowie das sterile Bodensubstrat wurden vor der Einbringung in das Grundmedium mehrfach mit VE-Wasser gewaschen, um die restlichen Bestandteile der Gemüsesaftmischung aus dem Substrat zu entfernen. Es wurde im Weiteren gründlich durchmischt, um das Myzel gleichmäßig im Substrat zu verteilen.

Pro Saatschale wurde die oben beschriebene Menge Substrat verwendet und mit dem Grundmedium vermischt. Saatschalen wurden für die Infektion, zwei für die Kontrollaussaat verwendet.

Pro Saatschale waren 125 Samen vorgesehen, die am 7. Mai ausgesät wurden. Über den Zeitraum des Versuchs wurden die Saatschalen in einer Zelle des Gewächshauses des botanischen Gartens der Universität Duisburg-Essen platziert. Dort herrschten gemäßigte Temperaturen, die auf 10°C nachts und 14°C tagsüber eingestellt waren. Ein Herunterkühlen der Zelle fand ab 20°C statt.

In den folgenden drei Tagen fand eine Flutung des Saatgutes statt, um den Kontakt des Myzels mit den Samen zu forcieren. Im Anschluss wurden die Keimlinge wöchentlich ausgezählt, die Darstellung folgte als Keimprozent. Die Auszählung wurde beendet, nachdem über einen längeren Zeitraum keine Keimlinge mehr hinzu gekommen waren.

Die Versuchsreihe wurde abgeschlossen, nachdem an den Kontrollpflänzchen und den Erlenkeimlingen, die auf dem kontaminierten Boden gewachsen waren, verschiedene Aspekte analysiert worden waren. Unter anderem wurden Keimlingshöhen ausgemessen (Sprossbasis bis Sprossspitze) sowie die Fitness der Pflanzen über chlorophyllfluoreszenzanalytische Verfahren durch Aufnahme von Lichtkurven und Absorptionswerten beschrieben. Zuletzt wurden die Blattpigmente mittels des beschriebenen Verfahrens (siehe 3.5.3) bestimmt.

3.6.6 Infektionsversuche an getopften Erlen

Im Gegensatz zu den Stamminokulationsversuchen von Clemenz (2007) wurden die 20 Versuchsbäume lediglich einfach infiziert, da die Erzeugung unterschiedlicher Schweregrade der Infektion nicht notwendig war, um den direkten Einfluss des Pathogens auf die Stammbasis zu untersuchen. Mehrfachinfektionen mögen unter natürlichen Bedingungen mit großer Wahrscheinlichkeit durch periodischen oder permanenten Kontakt mit infektiösem Wasser gegeben sein, zur Untersuchung der Entwicklung einer Infektion ist der Ausschluss von Infektionsüberschneidungen allerdings vereinfachend.

Die Infektion der Erlen wurde mittels des Einsetzens von Agarplugs in Rindenauslassungen eingeleitet (Balci 2004). Mit einem sterilen Korkbohrer (4 mm Durchmesser) wurden in etwa 10 cm Entfernung zum Wurzelhals ein entsprechend großer Bereichs der Borke sowie der Rinde ausgestanzt und anschließend mit einem auf die gleiche Weise ausgestanzten Agarplug aufgefüllt. Zehn der Agarplugs waren dabei mit Myzel des Pathogens durchwachsen, während die anderen zehn Plugs von sterilen Kontrollagar-Platten stammten und die so inokulierten Erlen die Kontrollpflanzen bildeten. Die Infektionsstellen wurden mit sterilem Parafilm umwickelt. Es folgten jeweils eine angefeuchtete Kompresse und eine Mullbinde sowie Cellophan als Schutz vor Austrocknung der Infektionsstellen. Als Schutz gegen übermäßige Sonneneinstrahlung und daraus resultierender Erhitzung des Bastes bestand die letzte Schicht aus einer Lage Aluminiumfolie.

Die so konzipierte Manschette blieb während der gesamten Versuchszeit erhalten, um ein entsprechend feuchtes und temperiertes Milieu für eine erfolgreiche Infektion zu schaffen.

3.6.6.1 Biometrische Daten

Während des gesamten Untersuchungszeitraums wurden in monatlichen Abständen die Sprosslängen der Versuchsbäume, gemessen ab dem Wurzelhals, sowie der Durchmesser der Stämmchen, 2 cm über dem Wurzelhals gemessen, ermittelt.

Zum Zeitpunkt der Inokulation wiesen die mit *P. alni* subsp. *alni* inokulierten Erlen ($n = 10$) eine durchschnittliche Höhe von 97,2 cm ($\pm 14,8$ cm) und einen Durchmesser von 18,07 mm ($\pm 2,43$ mm) auf, die Kontrollbäume zeigten eine mittlere Höhe von 93,65 cm ($\pm 9,46$ cm) und einen Durchmesser von 14,08 mm ($\pm 1,23$ mm).

3.6.6.2 Temperatur der Rindenoberfläche

Mit dem Beginn der Infektion wurde an drei getopften Erlen, die inmitten der Kontrollerlen positioniert und somit den gleichen Standortbedingungen ausgesetzt waren, permanent die Temperatur der Rindenoberflächen in Nord- und Südausrichtung gemessen. Dazu wurden Thermoelemente auf den jeweiligen Seiten in etwa 10 cm Höhe (Inokulationshöhe) fixiert. Die Daten wurden von einem Datenlogger (Grant Eltek, Squirrel Serie 1000, Driesen + Kern GmbH) in viertelstündlichen Intervallen erfasst und über einen Mittelwerte-Modus stündlich gespeichert, so dass Tagesgänge erkennbar waren.

Die inokulierten Erlen sowie die Kontrollbäume blieben während des Versuchsfensters jeweils immer in die gleiche Richtung ausgerichtet (die Richtung wurde anfangs willkürlich gewählt und war unabhängig von der Seite der Infektion), um bei unterschiedlicher Entwicklung der Infektionsbereiche möglicherweise einen Temperatureffekt in Betracht ziehen zu können.

3.6.6.3 Ausbreitung der Läsionen

Für die Erfassung des Fortschritts der Läsionsentwicklung wurde im 2-wöchentlichen bzw. wöchentlichen Abstand die Größe des optisch nekrotisch wirkenden Gewebes gemessen. Dazu wurden diese Bereiche vom jeweils äußeren Rand der Inokulationsstelle nach oben, nach unten und zu den Seiten mittels einer elektronischen Schieblehre vermessen.

3.6.6.4 Chlorophyllfluoreszenzanalytische Untersuchungen im nahen Infektionsbereich

Neben der Vermessung der Infektionsbereiche fanden Untersuchungen hinsichtlich der physiologischen Beschaffenheit dieser Bereiche und ihrer nahen Umgebung statt.

Durch Nutzung chlorophyllfluoreszenzanalytischer Verfahren (siehe 3.5.1) wurde über die gesamte Fläche die Absorption und punktuell die maximale Quantenausbeute der Photosysteme (Fv/Fm) erfasst.

Die Absorption wurde mit der Imaging PAM ermittelt. Deren Software ermöglicht es, sowohl die Absorption der gesamten Fläche zu ermitteln als auch punktuell

Aussagen über die Absorption über ausgewählte Bereiche (Areas of interest) zu treffen. Im Falle der Infektionszungen wurden Transekte durch den Infektionsbereich gelegt, die von unten nach oben ausgerichtet waren und anhand derer das Absorptionsmaß quantifiziert werden konnte (siehe Abb. 6).

Zu den entsprechenden Bereichen ermöglichen Nahinfrarot- (NIR-) Aufnahmen eine optische Vorstellung der Infektionszungen.

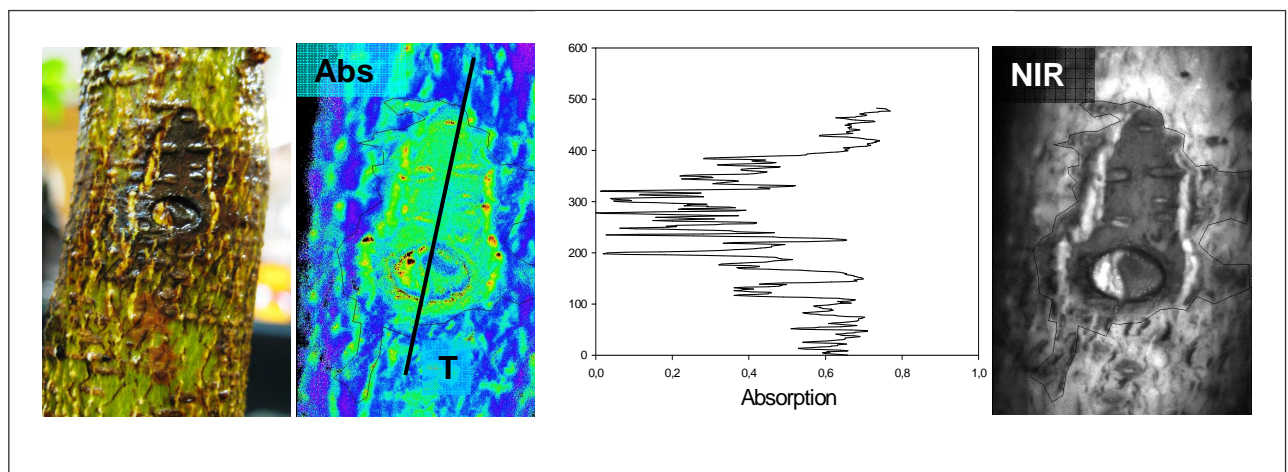


Abb. 6: Beispiel einer Infektion an der Stammbasis, Absorptionsimage (Abs) mit Transekt durch den Inokulations- und Infektionsbereich (T), Quantifizierung der Absorptionswerte entlang des Transekts sowie Nahinfrarotaufnahme (NIR) zur Visualisierung des Messbereichs

Ergänzend wurde die maximale Quantenausbeute (F_v/F_m) in einzelnen Infektionsabschnitten mittels PAM-210 ermittelt. Gemessen wurde dabei im Infektionszentrum sowie, davon ausgehend, in 0,5 cm-Abschnitten in Richtung des Wurzelhalses und stammaufwärts.

3.6.6.5 Gaswechsellmessungen an der Stammbasis

Ergänzend zu den chlorophyllfluoreszenzanalytischen Untersuchungen wurde im Bereich der Inokulationsstellen die Dunkelatmung (R_d) an acht infizierten Bäumen und acht Kontrollen gemessen (Messprinzip siehe 3.5.2)

Der Gaswechsel wurde im 2- bis 4-wöchentlichen Rhythmus überprüft. Die Messkammer wurde dabei so um den Stamm fixiert, dass die Inokulationsstelle mittig positioniert war. Die Öffnungen wurden mit Dichtungsmasse (Terostat-IX) versiegelt.

Die Dunkeladaption der Bäume wurde erreicht, in dem man die Bäume bereits vor den Messungen in einem abgedunkelten Raum positionierte und dort auch die Messungen vornahm.

Die Gaswechselraten wurden bei den Stämmchen auf deren Oberfläche (Periderm) bezogen (Gl. 14), da mit der Rinde die aktivsten Stammgewebe oberflächennah positioniert sind (Larcher 2001).

3.6.7 Untersuchungen an adulten Erlen (Freiland)

3.6.7.1 Zweiggaswechsel

Untersucht wurden 0-jährige und 1-jährige Zweige von *Phytophthora alni*-infizierten Erlen und optisch gesunden Bäumen. Die Zweige wurden im Mai 2007 aus den Außenkronen der jeweiligen Erlen geerntet und bis zum Abschluss der Messung mit den Schnittstellen in Leitungswasser stehend konserviert. Die Äste wurden, sobald sie sich im Wasser befanden, unter der Wasseroberfläche nochmals deutlich gekürzt, um Embolien durch eintretenden Sauerstoff zu vermeiden. Die Messungen fanden im Anschluss unter Laborbedingungen statt.

Zur Messung wurden bezüglich der Größe möglichst vergleichbare Zweige ausgewählt; weiterhin wurde darauf geachtet, dass es sich weitgehend um Internodienbereiche handelte. Wenn dies nicht möglich war, wurden die von den Nodien ausgehenden Knospen, Blätter oder Zweige mittels eines Skalpell entfernt und die Schnittstellen mit künstlicher Rinde (Lac Balsam[®]) versiegelt, um Wasseraustritt sowie Wundatmung des Gewebes zu vermeiden.

Vor Beginn der Gaswechselmessungen wurden die Zweige vermessen.

Notiert wurden die eingespannte Länge (Höhe $h = 5\text{ cm}$) sowie die Zweigdicke (r), um die Mantelfläche (A) wie folgt zu berechnen,

$$A = 2\pi * r * h \quad (\text{Gl. 14}),$$

da die Mantelfläche des jeweils eingespannten Zweiges als Bezugsgröße für die Voreinstellung der Gaswechsel-Messanlage benötigt wurde.

Die Rahmenbedingungen waren bis auf die Lichtintensität die gleichen wie bei den Messungen zum Stammgaswechsel. Neben der Dunkelatmung (R_d) wurden auch

hier die Atmungsraten bei Belichtung (R_L) gemessen. Die Lichtintensität, gemessen an der Zweigoberfläche, lag bei allen Untersuchungen bei $850 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, während die Temperatur in der Messkammer auf 20°C und die Luftfeuchte auf 55 – 60 % eingestellt wurde.

Die Verdunklungs- bzw. die Belichtungszeit betrug jeweils etwa 15 – 20 min, um einen stabilen Zustand bezüglich der Photosyntheseaktivität zu erreichen.

Die zweiginternen maximalen Photosynthese- bzw. Bruttphotosyntheseraten (P_B) wurden über die absolute Differenz zwischen dem CO_2 -Gaswechsel unter Lichtsättigung und der Dunkelrespiration berechnet:

$$P_B = |R_d - R_L| \quad (\text{Gl. 15})$$

Des Weiteren wurde die Lichtintensität von $850 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ insofern korrigiert, als dass für die Periderme von 0-jährigen und 1-jährigen Zweigen, jeweils von *Phytophthora alni*-infizierten und optisch nicht infizierten Zweigen Transmissionsmessungen durchgeführt und die vom Periderm absorbierten bzw. reflektierten Anteile von den ursprünglichen $850 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ subtrahiert wurden (siehe 3.5.4).

3.6.7.2 Infektionsdynamik im Freiland

Ergänzend zu der zeitlichen Kinetik der Infektionszungenausbreitung an inokulierten Stämmchen wurde von Februar 2008 bis Mai 2008 eine vergleichbare Untersuchung an einer *Phytophthora alni*-infizierten Schwarzerle im Freiland (Karthus) durchgeführt, um einen Eindruck der Ausbreitung des Pathogens unter natürlichen Bedingungen zu gewinnen.

Dazu wurde ein geeigneter, leicht zugänglicher Baum ausgewählt, der deutliche Krankheitssymptome wie Teerfluss und eine spärliche Krone aufwies. Das Alter wurde auf etwa 15 Jahre geschätzt, der Durchmesser der Erle lag an der Stammbasis bei etwa 15 cm.

Der ausgewählte Versuchsbaum nahm insofern einen Sonderstatus ein, als dass er im Gegensatz zu den anderen Erlen nicht an der Wassergrenze bzw. im regelmäßig gefluteten Bereich angesiedelt, sondern etwa 3 m vom Bach entfernt positioniert war. Die Vorbereitung des Versuchsbaumes beinhaltete eine Reinigung des zu untersuchenden Stammbereichs. Zu diesem Zweck wurde die Borke mit

Leitungswasser mehrfach gewaschen, um ausschließen zu können, dass Algen die Chlorophyllfluoreszenz-Messungen an der Rinde beeinflussen. Nach der großflächigen Säuberung konnte zudem der für die Messung relevante Bereich besser lokalisiert werden. Von Interesse war dabei der Übergang des nekrotischen Gewebes der Infektionszunge zu einem weitgehend intakten, vom Pathogen unbeeinflussten Rindenareal. Die Messungen sollten außerdem den gesamten Stammumfang berücksichtigen.

Der ausgewählte Stammabschnitt lag zwischen 1,45 m und 1,95 m (gemessen ab der Stammbasis).

Auf diesen Bereich wurde ein Raster projiziert, was in der Praxis in Form eines Schweißgitters vorlag (12 mm Maschenweite). Dieses wurde langfristig für die Dauer der Messreihe am Stamm fixiert, um das Raster für alle Folgemessungen reproduzieren zu können und so die Vergleichbarkeit über das Jahr gewährleisten zu können.

Das Raster löste sich auf in 27×37 Maschen, dies entspricht 999 Messpunkten.

Die Messung von Fv/Fm-Werten machte ein Abdunkeln des Stamms erforderlich, was durch das Umwickeln desselben mit Aluminiumfolie und eine lockere Abschirmung des Bereiches durch schwarze UV-strahlungsdichte Abdeckfolie umgesetzt wurde. Der jeweils aktuelle Messpunkt wurde kurz vorher von der Aluminiumfolie befreit, die schwarze Folie sicherte während des Messprozesses weiterhin die Abdunklung.

Die Fluoreszenzmessungen wurden mit der PAM 2000 durchgeführt.

Parallel dazu wurde an einer Stelle exemplarisch die Absorption eines Stammabschnitts erfasst (Imaging PAM).

Ergänzend wurde die Temperatur auf der Nord- und auf der Südseite des Baumes mit Hilfe von Thermoelementen im Tagesgang verfolgt.

Die Auswertung erfolgte mit SigmaPlot 8.0 (SPSS Science Software) und Adobe Photoshop CS3. Es wurden 3D- und Contour-Plots mittels SigmaPlot 8.0 erstellt sowie die Einzelbilder der Absorptionsmessung mit Hilfe von Adobe Photoshop CS3 zu einem Gesamtbild zusammengesetzt. Die Plots visualisieren jeweils die maximalen Quantenausbeuten, die über die Oberfläche des Stammabschnitts gemessen wurden.

Für den Zeitraum von Januar 2008 bis Mai 2008 wurden ergänzend einige Wetterdaten der Wetterstation Dülmen zusammengestellt.

3.6.7.3 Infektion und Gewebedestruktion

Ergänzend zu der kinetischen Analyse einer unter natürlichen Bedingungen entstandenen Infektionszunge wurden die entsprechenden Untersuchungen an einer weiteren *Phytophthora alni*-infizierten Erle durchgeführt mit dem Ziel, eine Verbindung zwischen den Ergebnissen der chlorophyllfluoreszenzanalytischen Untersuchungen und dem Zustand der Stammgewebe herzustellen.

Die ausgewählte Erle wurde zu diesem Zweck gefällt und in 1 m - Abschnitten zur weiteren Bearbeitung zur Universität Duisburg-Essen transportiert.

Wie auch bei den Messungen im Freiland wurde die vermutete Übergangszone zwischen Infektionsbereich und intaktem Rindengewebe mit Leitungswasser gesäubert und mit einem Messraster (27 * 35) versehen.

Die Fv/Fm-Werte wurden über diesen gesamten Bereich aufgenommen, die Absorptionsmessungen fanden wiederum exemplarisch an einem Abschnitt in der Übergangszone der Infektionszunge statt, die auf der Basis der Fv/Fm-Daten festgelegt wurde.

Anschließend an die Messungen wurde der vermessene Bereich in Scheiben von einem Zentimeter Dicke gesägt und abgeschliffen. Die übrigen Stammabschnitte wurden in 10 cm dicke Segmente gesägt und ebenfalls abgeschliffen. Von allen Scheiben wurden die Durchmesser ermittelt und ein digitales Bild erstellt.

Anhand einer repräsentativen Auswahl von Segmenten, dargestellt in Abb. 7, wurde der Zustand des Gesamtbaumes sowie der der Messzone hinsichtlich des Destruktionsgrads (prozentual und absolut) sowohl der Rinde als auch des Holzkörpers dokumentiert.

Der Destruktionsgrad wurde anhand der digitalen Aufnahmen mit Zuhilfenahme von analySIS FIVE (Soft Imaging System GmbH) ermittelt, wobei sich bezüglich des Holzkörpers an der Fläche, bezüglich der Rinde am Umfang orientiert wurde.

Einige Segmente aus dem Messbereich (M1 bis M15) wurden von Prof. Dr. N. Ale-Agha (Institut für allgemeine Botanik, Forschungsschwerpunkt „Pflanzenpathogene Pilze und andere Mikropilze“, Universität Duisburg-Essen) per Mikroskopie hinsichtlich parallel zu *P. alni* auftretenden lignicolen (Mikro)Pilzen untersucht.

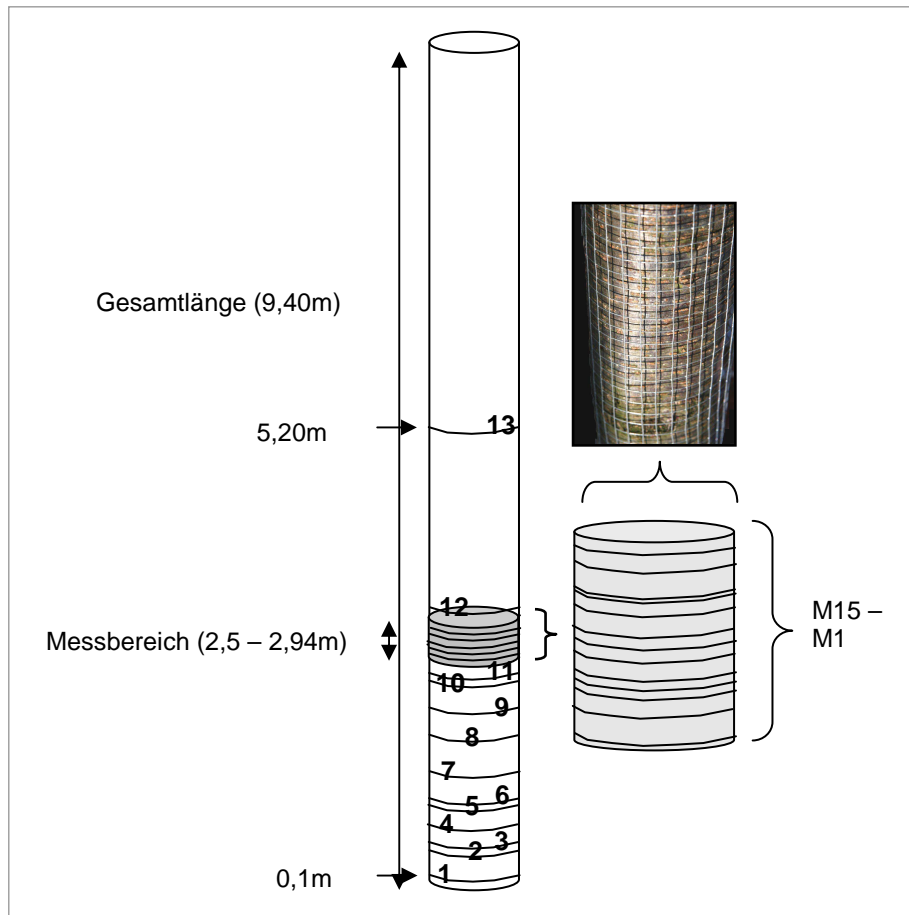


Abb. 7: Stammdiagramm der gefällten Schwarzerle mit der Nummerierung der jeweiligen Stammscheiben

3.7 Statistische Auswertung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die folgenden statistischen Verfahren hinzugezogen [im Detail nachzuvollziehen bei Sachs (1995)]:

- Deskriptive Statistik:
Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD), Standardfehler (SE)
- Verteilungsform:
Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest
- Vergleich von Stichproben:
Student'scher t-Test (Normalverteilung)
- Korrelationsanalyse:
nach Pearson (Normalverteilung)

Die Analysen fanden über die Verwendung des Programms SigmaPlot 8.0 und SPSS 10.0 (SPSS Science Software) statt.

Regressionskurven sowie die dazugehörigen statistischen Berechnungen wurden über einen „Curve-Fitter“ ermittelt. Dieser operiert auf der Grundlage des Marquardt-Levenberg-Algorithmus', über den die Bestimmung der unabhängigen Variablen möglich ist, die über die beste Annäherung zwischen den gewonnenen Daten und der entsprechenden Funktion verfügt. Die unbekannten Parameter einer Funktion werden dabei numerisch so angenähert, dass die optimierte Funktion möglichst gut zu einem Satz vorgegebener Werte passt.

Die Angaben zur Signifikanz der Unterschiede zwischen den Datensätzen erfolgten über den p-Wert, über den die Hypothese bestätigt werden soll, dass die verglichenen Datensätze keiner gemeinsamen Grundgesamtheit angehören.

Der jeweilige Signifikanzgrad wurde in den graphischen Darstellungen und Tabellen mit Verwendung der 3-stufigen Sternsymbolik nach Sachs (1995) dargestellt:

$p > 0,05$	nicht signifikant (n.s.)
$0,05 \geq p > 0,01$	signifikant auf einem 5%-Niveau: signifikant (*)
$0,01 \geq p > 0,001$	signifikant auf einem 1%-Niveau: hoch signifikant (**)
$p \leq 0,001$	signifikant auf einem 0,1%-Niveau: höchst signifikant (***)

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Blüten- und Fruchtstände

Bezüglich der Einflussnahme von *P. alni* auf *Alnus glutinosa* werden als erstes die Ergebnisse zu den Blüten- und Fruchtständen vorgestellt, die das Bindeglied im Entwicklungszyklus der Schwarzerle zwischen mannbaren Bäumen und dem Samenstadium darstellen (vgl. Abb. 3, V.).

4.1.1 Gewichte und Größen von Kätzchen

Die Kätzchen optisch gesunder und *P. alni*-infizierter Erlen unterschieden sich hinsichtlich ihrer Frisch- und Trockengewichte sehr deutlich voneinander: Die Abweichungen zwischen den Frischgewichten der „gesunden“ Kätzchen mit 0,61 g pro Blütenstand und der Kätzchen infizierter Erlen mit 0,36 g pro Blütenstand waren höchst signifikant, die letzteren waren im Durchschnitt 41 % leichter (vgl. Abb. 8).

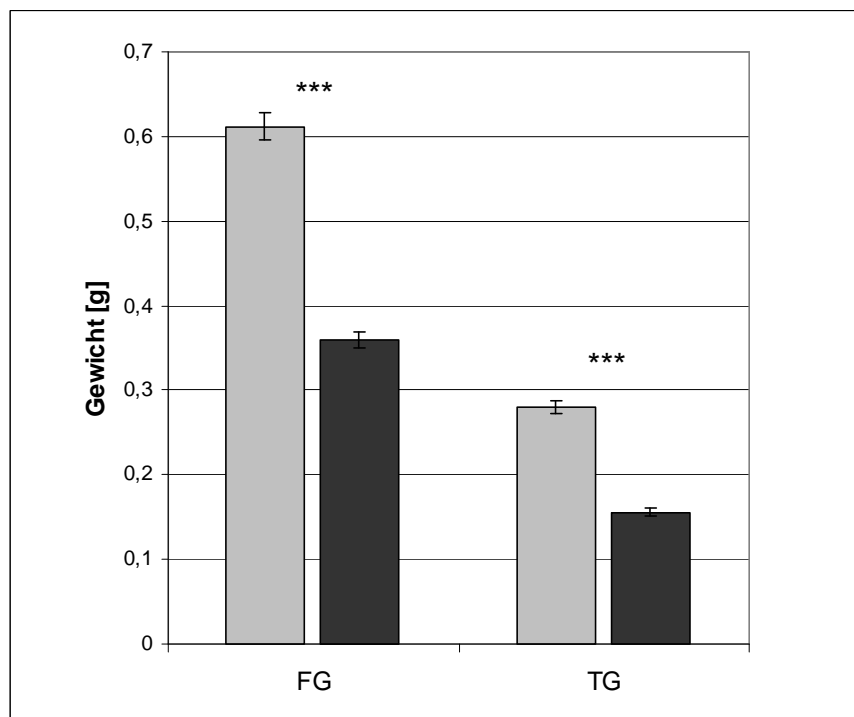


Abb. 8: Frisch- und Trockengewichte in g (FG und TG) von Kätzchen nicht infizierter Erlen (grau, n = 411) und *Phytophthora*-infizierter Erlen (schwarz, n = 408); dargestellt sind MW ± SE

Höchst signifikante Unterschiede konnten ebenfalls für die Trockengewichte der beiden Gruppen ermittelt werden. Die einzelnen Kontrollkätzchen wogen im getrockneten Zustand im Durchschnitt 0,28 g, während die symptomtragenden Blütenstände lediglich 0,16 g wogen, was einen Unterschied von 44,4 % bezogen auf die gebildete Trockenmasse darstellt.

Bezüglich des aktuellen Wassergehalts unterschieden sich die Kätzchen allerdings kaum voneinander. Die symptomfreien Kätzchen wiesen einen Wassergehalt von 54,2 % auf, die Kätzchen infizierter Erlen vergleichbare 56,7 %.

Die Unterschiede in Frisch- und Trockengewichten spiegeln sich in den Größen der Kätzchen deutlich wider (Abb. 9). Während die „gesunden“ Kätzchen eine mittlere Länge von 31,1 mm aufwiesen, waren die Kätzchen infizierter Bäume mit 24,4 mm im Vergleich etwa 22 % kürzer.

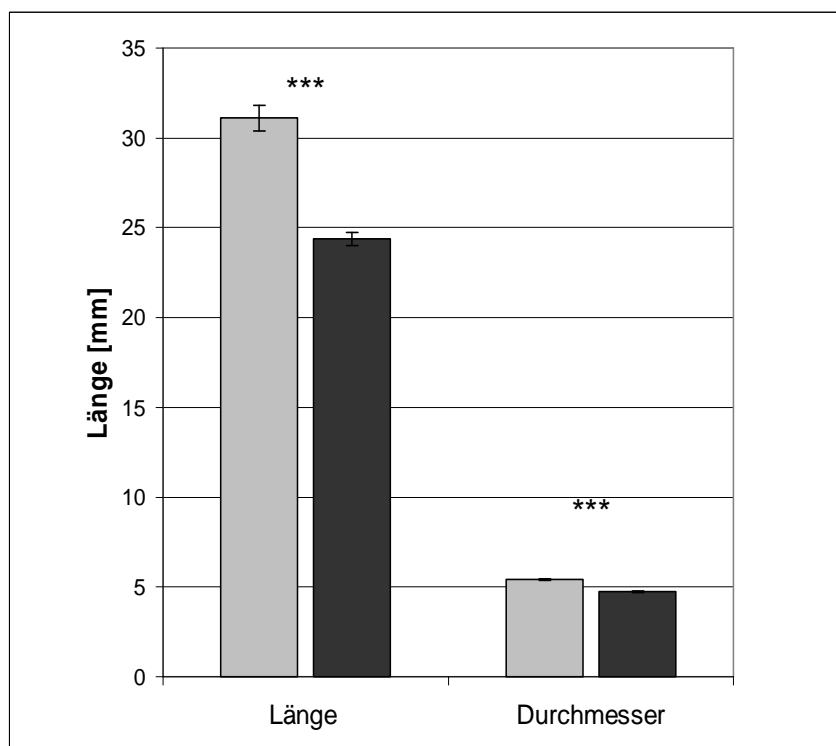


Abb. 9: Längen und Durchmesser von Kätzchen optisch gesunder Erlen (grau, n = 411) und *Phytophthora*-infizierter Erlen (schwarz, n = 408) in mm; dargestellt sind MW \pm SE

Ähnliches ergab sich bei den Messungen der Durchmesser: Die Kätzchen der symptomatischen Bäume hatten mit 4,75 mm nur 88 % des Durchmessers der

Kätzchen symptomfreier Bäume erreicht, bei denen ein mittlerer Durchmesser von 5,4 mm ermittelt wurde. Sowohl die Unterschiede in der Länge der Kätzchen als auch in deren Durchmesser waren höchst signifikant.

Anhand der Berechnung des Schlankheitsgrads (Länge / Durchmesser) konnte konstatiert werden, dass die Kätzchen infizierter Erlen lediglich die verkleinerte Variante symptomfreier Kätzchen darstellten. Bei letzteren ergab sich ein Schlankheitsgrad von 5,7, bei den symptomtragenden einer von 5,1. Die Kontrollgruppe war demnach in Relation betrachtet nur ein wenig schmaler. Mit Einbezug des vergleichbaren Wassergehaltes kann resümiert werden, dass die relative Trockenmassebildung in den beiden Gruppen ähnlich war.

4.1.2 Gewichte und Größen von Zapfen

Die Gewichte der Zapfen optisch gesunder Erlen und die der Zapfen symptomtragender Erlen unterschieden sich erheblich voneinander. Allerdings zeigte sich auch innerhalb der Gruppe der Zapfen symptomloser Erlen eine sehr hohe Streuung.

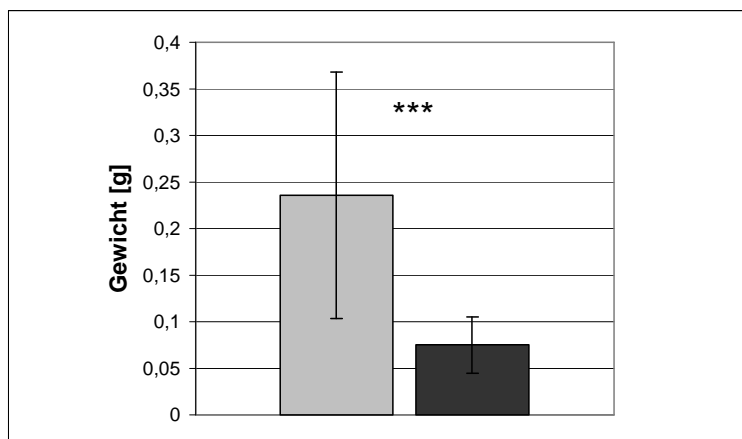


Abb. 10: Trockengewichte in g von Zapfen optisch gesunder Erlen (grau, n = 346) und von *Phytophthora*-infizierten Erlen (schwarz, n = 499); dargestellt sind MW \pm SD

Bei der gravimetrischen Bestimmung der Trockengewichte der verholzten Zapfen ergab sich für die gesunden Zapfen ein durchschnittlicher Wert von 0,24 g, wobei die meisten Zapfen zwar zwischen 0,11 und 0,25 g wogen, aber einige die Gewichtsspannbreite auch bis 0,85 g ausdehnten (siehe Abb. 10). Die Zapfen der

symptomatischen Erlen erreichten im Mittel 0,08 g und bewegten sich hauptsächlich zwischen 0,05 und 0,09 g; es gab nur wenige wesentlich schwerere Zapfen in dieser Gruppe. Die Zapfen der symptomtragenden Erlen bewegten sich somit in einem deutlich engeren Feld als die der gesunden Bäume (vgl. Abb. 11).

Die Gewichtsunterschiede zwischen den beiden Gruppen sind höchst signifikant.

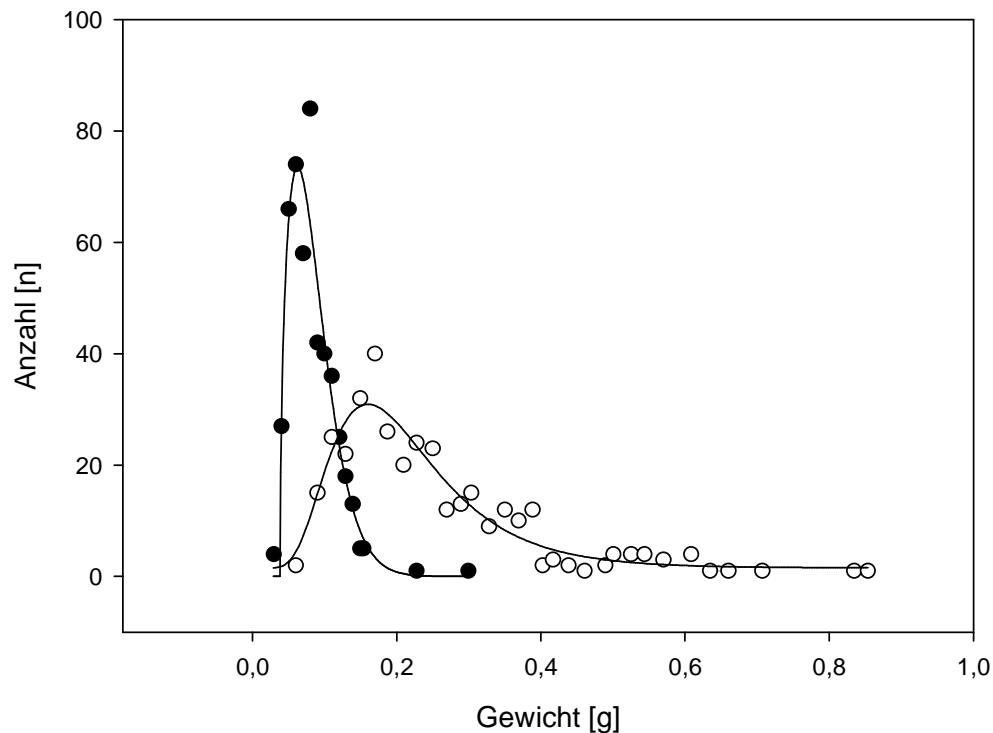


Abb. 11: Gaußsche Verteilung der Trockengewichte in g von Zapfen optisch gesunder Erlen (weiß, n = 346) und von *Phytophthora*-infizierten Erlen (schwarz, n = 499)

Auch im Hinblick auf die Größe der Zapfen waren bereits optisch Unterschiede zu erkennen. Die Zapfen der *Phytophthora*-infizierten Erlen wirkten deutlich kleiner und schmaler (Abb. 12).

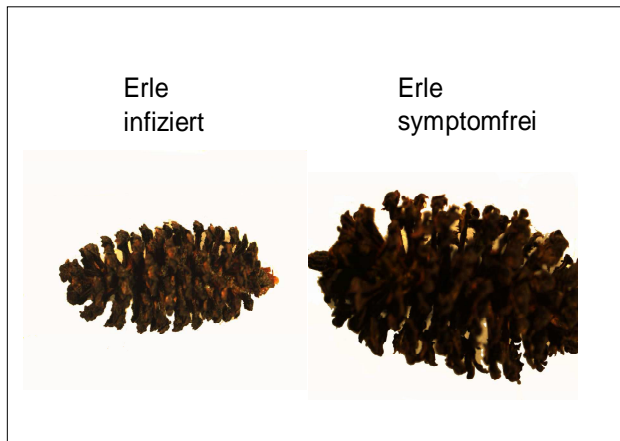


Abb. 12: Optischer Vergleich von Zapfen gesunder und *Phytophthora*-infizierter Schwarzerlen

Die Beobachtung bestätigte sich durch die Vermessung:

Die Zapfen symptomfreier Erlen wiesen im Durchschnitt eine Länge von 16,4 mm ($\pm 3,4$ mm) auf, die der kranken Erlen nur eine Länge von 11,9 mm ($\pm 2,0$ mm).

Die Durchmesser unterschieden sich in vergleichbarer Art. Während bei Zapfen unbelasteter Bäume ein Durchmesser von 10,4 mm ($\pm 1,4$ mm) ermittelt wurde, konnte an Zapfen erkrankter Bäume nur ein Durchmesser von 6,7 mm ($\pm 1,0$ mm) erfasst werden (Abb. 13). Sowohl die Unterschiede zwischen den Längen als auch zwischen den Durchmessern wurden als höchst signifikant eingestuft.

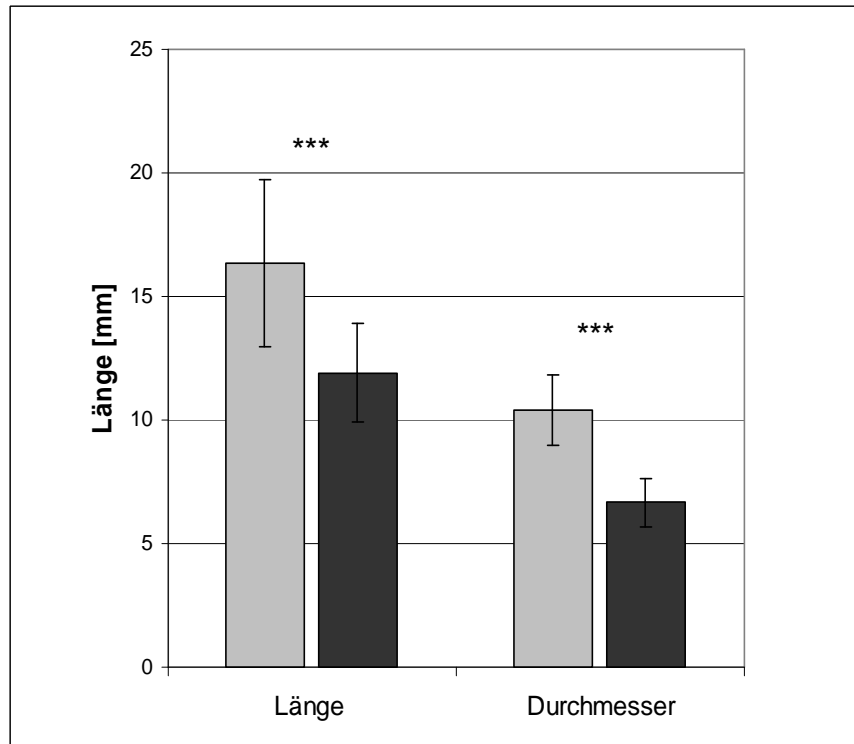


Abb. 13: Längen und Durchmesser von Zapfen optisch gesunder Erlen (grau, n = 343) und *Phytophthora*-infizierter Erlen (schwarz, n = 500) in mm; dargestellt sind MW \pm SD

Die Berechnung des Schlankheitsgrads spiegelte den ersten optischen Eindruck wieder: Demnach waren Zapfen gesunder Bäume mit einem Schlankheitsgrad von 1,56 (\pm 0,20) insgesamt wesentlich breiter im Verhältnis zu ihrer Länge als Zapfen infizierter Bäume mit 1,79 (\pm 0,24); [$p < 0,001$].

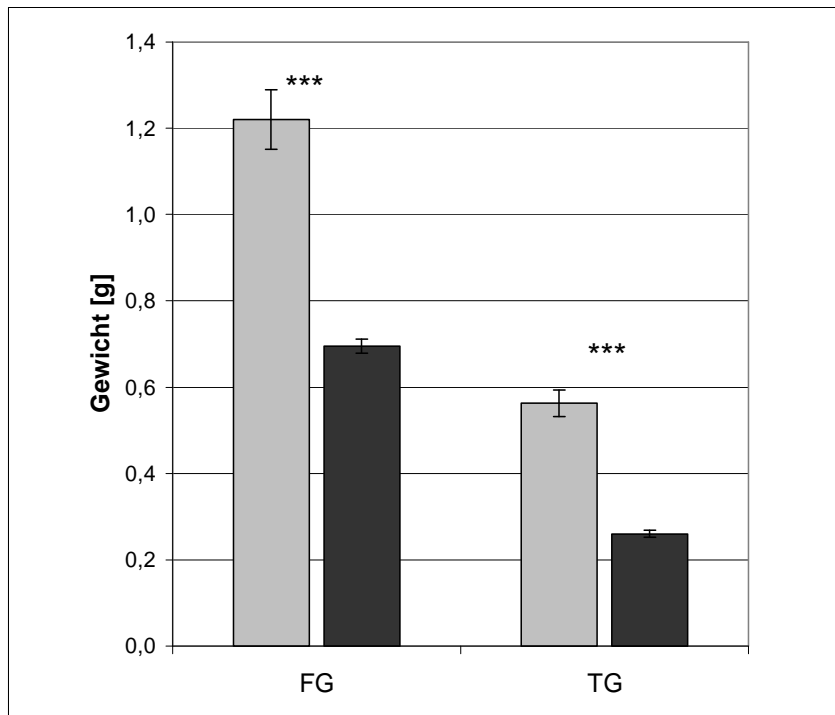


Abb. 14: Frischgewichte (FG) von grünen Zapfen optisch gesunder (grau, n = 78) und *Phytophthora*-infizierter Erlen (schwarz, n = 81) sowie die zugehörigen Trockengewichte (TG) in g; dargestellt sind MW \pm SD

Zwischen Zapfen gesunder und *Phytophthora*-infizierter Erlen zeigten sich klare Unterschiede sowohl hinsichtlich des Gewichts als auch der Größe. Die Ergebnisse der Untersuchung verifizieren unter anderem die Beobachtungen von Gibbs et al. (2003), der bereits auf die optischen Größenunterschiede der Fruchtstände hinwies. Die deutlich in Größe und Gewicht reduzierten Zapfen deuten darauf hin, dass die beprobten Bäume bereits in ihrer Physiologie geschwächt gewesen sein müssen. Es ist davon auszugehen, dass der Kohlenstoffgewinn und / oder dessen Allokation innerhalb des Organismus so eingeschränkt waren, dass es nur noch zu einem „verhaltenen“ Aufbau von Masse bei den Blütenständen kam, was beim Vergleich der Zapfentrockengewichte deutlich sichtbar wird.

Für das Wachstum von Zapfen werden gewöhnlich große Mengen an Kohlehydraten benötigt. Dickmann und Kozlowski (1970) kamen nach Untersuchungen an Nadelbäumen der Gattung *Pinus* zu dem Schluss, dass die Photosynthese grüner Zapfen nicht ausreichend ist, um ihren Eigenbedarf an Kohlenhydraten zu decken. Durch Gaswechsellmessungen an den Zapfen zeigten sie, dass deren photosynthetische CO₂-Aufnahme nur etwa zur Hälfte ihre respiratorisch bedingte

CO₂-Abgabe kompensieren konnte. Kohlenhydrate müssen demnach von anderen Quellen in die wachsenden Zapfen geleitet werden.

Sind Symptome so deutlich ausgeprägt wie bei den Zapfen der hier beprobten Erlen, muss deren Rinde durch *Phytophthora alni* schon so stark angegriffen gewesen sein, dass die Assimilatallokation in Richtung der Wurzeln nicht mehr ausreichte, um diese im genügenden Umfang zu versorgen. Geringeres Wurzelwachstum oder der Verlust von Wurzelbestandteilen können zur Folge haben, dass die ausreichende Versorgung der Krone mit Nährelementen und Wasser nicht mehr aufrecht gehalten werden kann. Nährstoff- und Wassermangel in der Krone müssen dort zwangsläufig zu einer Verminderung des Assimilationsvermögens führen. Messungen von Clemenz (2007), der sowohl an infizierten Schwarzerlen im Freiland als auch an inokulierten Erlentopfpflanzen eine reduzierte Nettophotosynthese an Blättern feststellte, bestätigten die systemische Schädigung.

4.1.3 Blüten- und Fruchtstände - Physiologische Aspekte

Die morphologischen Untersuchungen bezüglich der Größe und des Gewichts wiesen sowohl bei den männlichen als auch bei den weiblichen Blüten-/Fruchtständen höchst signifikante Unterschiede zwischen denen infizierter und nicht infizierter Erlen nach.

Die Schädigungen der von *P. alni* infizierten Bäume führten allerdings nicht nur zu einem Verlust an Größe und Masse dieser Organe, sondern äußerten sich auch in geringeren Gesamtchlorophyllgehalten in den Geweben von Kätzchen und Zapfen. Bei den Zapfen zeigte sich dies bereits optisch deutlich (siehe Abb. 15), bei den Kätzchen von infizierten und gesunden Bäumen waren keine auffälligen Unterschiede sichtbar.

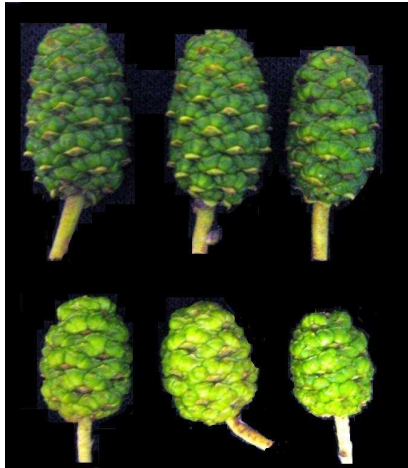


Abb. 15: Optischer Vergleich von Zapfen symptomfreier und *P. alni*-infizierter Erlen

Die Zapfen infizierter Erlen enthielten, bezogen auf ihr Frischgewicht, im Durchschnitt nur $0,49 \text{ mg g}^{-1}$ Chlorophyll im Gegensatz zu $0,92 \text{ mg g}^{-1}$, die bei den Zapfen gesunder Bäume gemessen wurden. Der Unterschied war mit 46,7 % höchst signifikant.

Bei den Kätzchen konnten nur geringe Unterschiede im Gesamtchlorophyllgehalt ermittelt werden. Das Ergebnis war mit $0,90 \text{ mg g}^{-1}$ und $0,85 \text{ mg g}^{-1}$ relativ ähnlich (vgl. Abb. 16), was den ersten optischen Eindruck widerspiegelte.

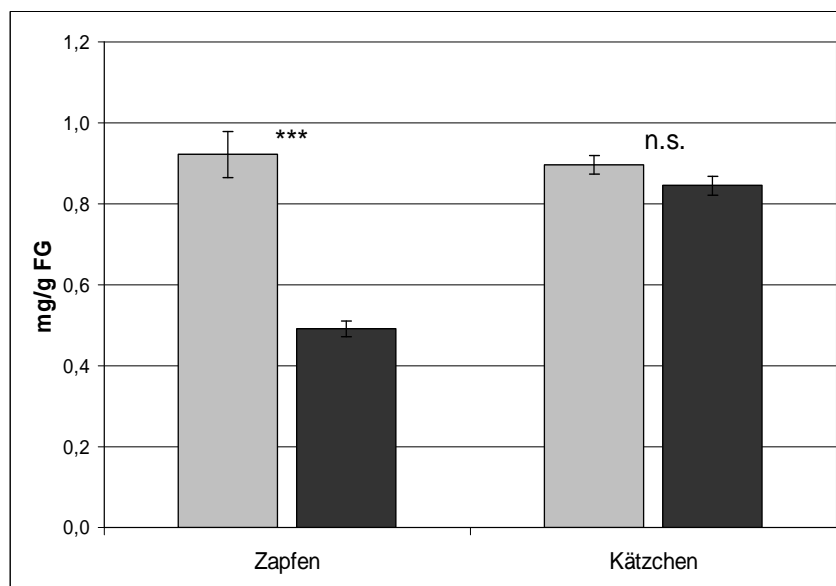


Abb. 16: Gesamtchlorophyllgehalt (in mg g^{-1} FG) von Zapfen ($n =$ jeweils 22) und Kätzchen ($n =$ jeweils 15) symptomfreier Erlen (grau) und infizierter Erlen (schwarz); dargestellt sind MW, SE und Signifikanzniveaus

Chlorophyllfluoreszenzanalytische Untersuchungen an Zapfen und Kätzchen hingegen ergaben keine mit den Pigmentanalysen vergleichbaren Unterschiede:

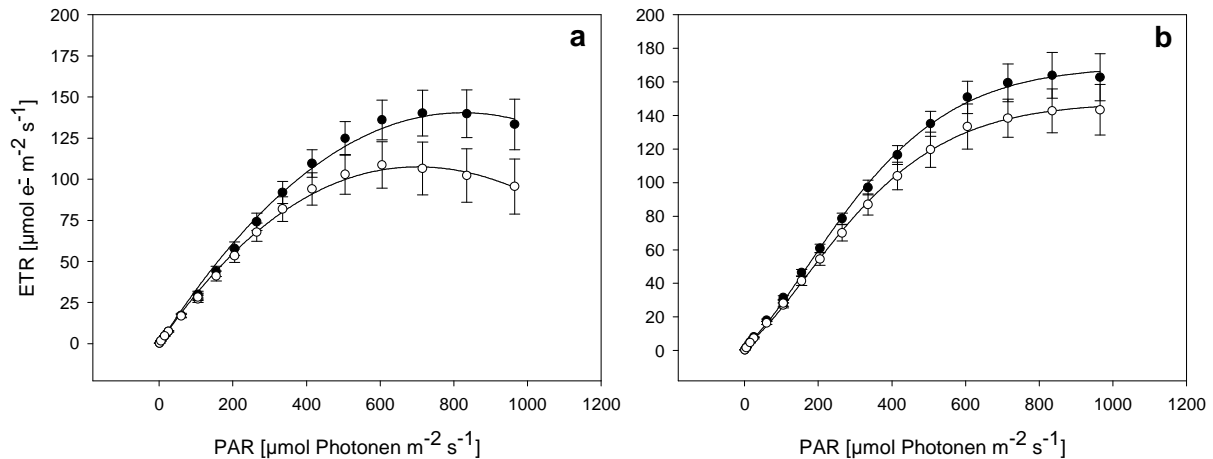


Abb. 17: Vergleich relativer Elektronentransportraten in Abhängigkeit zur Lichtintensität (PAR), zwischen (a) Zapfen gesunder Erlen (weiß; n = 20) und infizierter Erlen (schwarz; n = 24) und zwischen (b) Kätzchen gesunder Erlen (grau = 10) und infizierter Erlen (schwarz; n = 10); dargestellt sind MW und SD

Tab. 1: Absorption von Zapfen von nicht infizierten Erlen (K), n = 20, und von *P. alni*-infizierten Erlen (inf), n = 24, sowie von Kätzchen entsprechender Probenbäume (n = 18 und n = 26); dargestellt sind MW, SD sowie Signifikanzniveaus

	Zapfen (K)	Zapfen (inf)	Kätzchen (K)	Kätzchen (inf)
Absorption	0,912 ($\pm 0,01$)	0,823 ($\pm 0,04$)	0,874 ($\pm 0,02$)	0,877 ($\pm 0,01$)
Signifikanzniveau	*** (P < 0,001)		n.s. (P = 0,55)	

4.1.3.1 Zapfen

Die Elektronentransportraten der Zapfen gesunder Erlen fielen bei der Messung von Lichtkurven insgesamt wesentlich niedriger aus (Abb. 17). Bereits ab 105 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ zeigte sich ein signifikanter Unterschied zugunsten der Raten von Zapfen infizierter Erlen. Zwischen 155 und 265 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ war der Unterschied hoch signifikant und von da an mit ansteigender Lichtintensität sogar höchst signifikant. Während bei der Lichtreaktion symptomatischer Zapfen im Durchschnitt eine maximale Elektronentransportrate von 140 $\mu\text{mol e}^{-} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ gemessen wurde, fiel die Maximalrate der symptomfreien Zapfen mit 108 $\mu\text{mol e}^{-} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ um 23 % kleiner aus (vgl. Abb. 17).

Eine Erklärung für die niedrigeren Photosyntheseraten der Zapfen könnte ein voneinander abweichender Entwicklungsverlauf sein: Die Zapfen der symptomfreien Erlen waren zum Zeitpunkt der Ernte bereits deutlich größer und auch chlorophyllreicher. Im Gegensatz zu den kleineren, chlorophyllärmeren Zapfen infizierter Erlen waren sie deutlich härter und scheinbar im Begriff zu verholzen. In der Endphase ihrer Entwicklung ist eine hohe photosynthetische Aktivität nicht mehr notwendig, da kaum noch Energie zu Zwecken des Gewebeaufbaus bereitgestellt werden muss. Die Zapfen symptomtragender Erlen hingegen hatten diesen Entwicklungsstand in Größe und Gewicht zum gleichen Zeitpunkt noch nicht erreicht und befanden sich noch in ihrem Aufbau. Vor diesem Hintergrund erklärt sich die bei ihnen noch verhältnismäßig hohe photosynthetische Aktivität.

Auf der anderen Seite zeigte sich bei den Zapfen gesunder Erlen ein höchst signifikant größeres Absorptionsvermögen als bei den symptomatischen Zapfen. Ihr Absorptionsvermögen lag im Durchschnitt bei 91 %, das der Zapfen infizierter Erlen bei 82 % (Tab. 1).

Das Ergebnis spiegelt die ermittelten Chlorophyllgehalte wider. Es ist anzunehmen, dass die Zapfen der gesunden Erlen die bei den chlorophyllärmeren Zapfen ermittelte Photosyntheseleistung im Vorfeld übertroffen haben. Aus Kapitel 4.1.2 geht deutlich hervor, dass die Zapfen erkrankter Erlen den Endzustand der Zapfen gesunder Erlen bezogen auf ihre Trockenmasse und ihre Größe nicht annähernd erreichten.

Das geringere Absorptionsvermögen der Zapfen infizierter Erlen gegenüber dem der „gesunden“ Zapfen ist trotzdem immer noch als sehr hoch zu bewerten und vergleichbar mit dem ausdifferenzierter Blätter von Schwarzerlen. Diese zeigten nach eigener Überprüfung Absorptionswerte von 0,85, was einer Absorption von 85 % entspricht ($n = 30$).

Das Erklärungsmodell der unterschiedlichen Entwicklungsstadien wurde durch den relativen Wassergehalt der Zapfen unterstützt, der über die Frisch- und Trockengewichte der geernteten Zapfen (vgl. Abb. 14) nach Gleichung 13 berechnet wurde. Die symptomfreien Zapfen wiesen lediglich einen Wassergehalt von 53,9 % auf, was dafür spricht, dass der Prozess der Verholzung und der damit verbundene Wasserverlust bereits eingesetzt hatte. Der Wassergehalt der symptomatischen Zapfen war dagegen mit 62,5 % noch wesentlich höher.

In beiden Gruppen kam es, unabhängig von einem Befall durch *P. alni*, ab ungefähr $700 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ zu einem leichten Einbruch der ETR. Erlenzapfen werden zwar in der Jahresmitte gebildet, dürften aber nicht an hohe Lichtintensitäten adaptiert sein, da sie durch die Belaubung vor intensiver Strahlung geschützt sind. Vor diesem Hintergrund war die bei verhältnismäßig hoher Photonenflussdichte auftretende Photoinhibition zu erwarten, da die Zapfen eher schatten- als lichtangepasst sein müssten. Die Lichtsättigung der Photoreaktionen lag bei $500 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ und ist entsprechend mit der von Schattenblättern sommergrüner Laubbäume vergleichbar (Larcher 2001).

4.1.3.2 Kätzchen

Ebenso wie bei den weiblichen Blütenständen, fielen die Photoreaktionen an den Thylakoidmembranen der Kätzchen infizierter Erlen insgesamt effektiver aus als an denen der Kontrollkätzchen (vgl. Abb. 17). Letzte erreichten eine maximale ETR von $143 \mu\text{mol e}^{-} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, während bei den kleineren symptomtragenden Kätzchen ein durchschnittliches Maximum von $163 \mu\text{mol e}^{-} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ermittelt werden konnte. Bereits ab $15 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ lagen die Raten der Kätzchen infizierter Erlen durchweg höchst signifikant über denen der nicht infizierten.

Es ist zu überlegen, ob bei den männlichen Blütenständen eine ähnliche Erklärung greift wie bereits bei den weiblichen: Die Kätzchen unterschieden sich zum Zeitpunkt der Messungen zwar weder in ihrem Chlorophyllgehalt noch in ihrem Absorptionsvermögen (Abb. 16 und Tab. 1), wohl aber in ihren Längen und Durchmessern. Ebenso wie die Zapfen konnten sie die bestehenden Unterschiede im Wachstum bis zum Abschluss ihrer Entwicklung nicht mehr einholen (siehe Kapitel 4.1.1).

Allerdings wiesen die beiden Gruppen von Kätzchen, im Gegensatz zu den Zapfen, einen nahezu identischen Wassergehalt auf. Da die Kätzchen aber gegen Ende ihrer Entwicklung nicht verholzen, ist Wasserverlust bei ihnen auch nicht zwangsläufig als Indiz für fortschreitende Entwicklung zu erwarten. Dieser Aspekt in der Entwicklung von Kätzchen bleibt an dieser Stelle ungeklärt und bedarf weiterer Untersuchungen. Im Falle der männlichen Blütenstände sind die Ergebnisse insgesamt schwieriger einzuordnen als die der Zapfen, daher bleiben die Überlegung zu einem verzögerten Entwicklungsstand der Kätzchen infizierter Erlen im Vergleich zu den

Kontrollkätzchen und die damit verbundene höhere photosynthetische Aktivität recht hypothetisch.

4.1.4 Übergreifende Überlegungen

Infektionen mit *P. alni* führten an Blütenständen betroffener Erlen in vielerlei Hinsicht zu vergleichbaren Auswirkungen, es zeigten sich, funktionell-anatomisch bedingt Unterschiede, aber auch Unterschiede in physiologischer Hinsicht.

Im Gegensatz zu den Zapfen konnte bei den Untersuchungen der Kätzchen in beiden Gruppen keine Photoinhibition bei hohen Lichtintensitäten festgestellt werden: Die männlichen Blütenstände lagern an ihrer Oberfläche Anthocyane ein, die bei einsetzender Verlichtung der Kronen gebildet werden und einen effektiven Schutz gegen die einfallende Strahlung in den Wintermonaten darstellen, in denen die Beschattung durch die Belaubung fehlt. Dieser Schutz war bei einigen der Kätzchen bereits zum Zeitpunkt der Messung auf deren sonnenexponierter Seite in Ansätzen erkennbar. Während die verholzten Zapfen, die die fertig ausgebildeten Nüsschen enthalten, nur noch eine Schutzfunktion als Hülle besitzen, überdauern die männlichen Blütenstände den Winter lebend und müssen sich daher vor Destruktion durch Strahlung schützen. Zapfen sind im vitalen Zustand in der Regel keinen hohen Lichtintensitäten ausgesetzt, daher ist bei ihnen ein solcher Schutzmechanismus unnötig und nicht ausgeprägt.

Insgesamt waren die Elektronentransportraten der Zapfen mit 108 und 140 $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ und die der Kätzchen mit 150 und 167 $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ sehr hoch. Sonnenadaptierte Blätter nicht infizierter Erlen erreichten nach eigener Überprüfung maximale Raten (bei 715 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) von durchschnittlich 97 $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ($\pm 16 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ SD), wobei das Photosynthesevermögen von *Alnus glutinosa* über dem vieler anderer laubwerfender Baumarten liegt (Eschenbach 1995). Trotz der Aussage von Dickmann und Kozlowski (1970), dass grüne Zapfen ihren Eigenbedarf an Kohlenhydraten nicht decken können, sprechen die hohen Raten der weiblichen und männlichen Blütenstände von *Alnus glutinosa* für eine beträchtliche Eigenproduktivität.

Es zeigte sich zwar, dass die Kätzchen und Zapfen der infizierten Bäume bezüglich der photochemischen Reaktionen wesentlich effektiver waren als die

entsprechenden Blütenstände der gesunden Bäume; diese höhere Aktivität konnte aber offensichtlich nicht zu einer vergleichbaren Entwicklung führen, wie der Größen-, Gewichts- und Chloropyllgehaltsvergleich beider Gruppen widerspiegelte. Sicher ist, dass die Blütenstände zwar eigenproduktiv, aber dennoch zusätzlich auf Phloemflüsse von außen angewiesen sind.

Vermutlich waren die Assimilatverlagerung und -verteilung aus den Ressourcen der erkrankten Bäume zu ihren Blütenständen (als Senken) aufgrund ihrer schlechten Gesamtkonstitution nur noch eingeschränkt gegeben. Die erhöhten Elektronentransportraten könnten demnach auch für eine kompensatorische Reaktion stehen, die dazu dient, die Reproduktion von Nachkommen zu sichern, vorausgesetzt, dass eine ausreichende Versorgung mit Wasser und Nährstoffen gewährleistet ist.

Weiterhin ist zu überlegen, ob die gestörte Physiologie der betroffenen Bäume nicht indirekt in den Blütenständen aufgrund deren Mangelversorgung zu Stressreaktionen und dadurch zu einer verstärkten mitochondrialen Atmung führte. Eine erhöhte photosynthetische Leistung könnte dieser kompensatorisch entgegenwirken, ohne sich letztlich in einer positiven Nettophotosyntheserate zu äußern.

Allerdings gibt es bislang keine Untersuchungen zu den CO₂-Umsatzraten und der Nettophotosynthese von Erlenblüten, so dass über deren Energiebilanzen keine Aussagen getroffen werden können.

Hinsichtlich der Zapfen wurde bereits die Annahme der verspäteten Entwicklung der Blütenstände infizierter Erlen gemacht. Generell spricht dafür, dass ein besserer Grundzustand des Gesamtsystems und eine optimale Versorgung durch Mineralstoffe sowie Assimilate Wachstum und Entwicklung fördern, während Mangelzustände verzögernd oder auch hemmend wirken (Larcher 2001).

4.2 Keimungsverhalten und Keimlingsvitalität

Die in den Zapfen gebildeten Samen sowie die sich aus den Samen entwickelnden Keimlinge bilden die ersten beiden Stadien im Entwicklungszyklus von *Alnus glutinosa* (vgl. Abb. 3, I. und II.). Die möglichen Auswirkungen von *P. alni*-Infektionen auf Samen und Keimlinge werden im Folgenden nachvollzogen.

4.2.1 Samen – Biometrische Daten

Die bei den Zapfen infizierter Erlen dokumentierte Entwicklung wurde bei deren Samen fortgesetzt:

Die kleineren Zapfen produzieren auch wesentlich kleinere Samen, so dass diese Unterschiede auch hier bereits visuell festzustellen waren (vgl. Abb. 18).

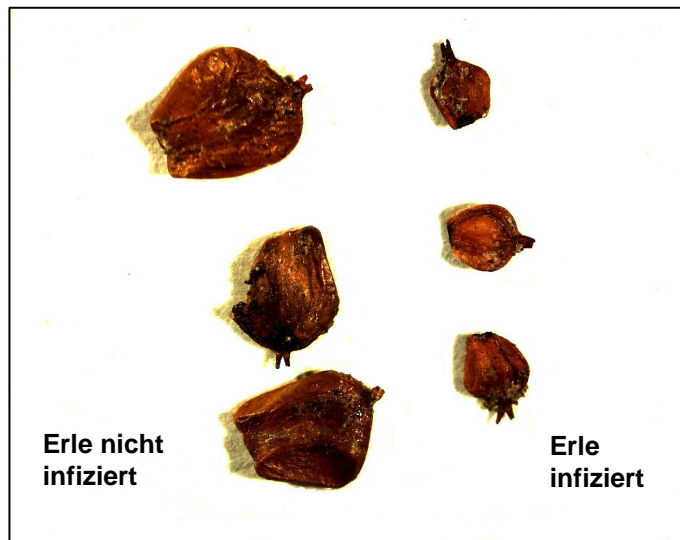


Abb. 18: Optischer Vergleich von Samen nicht infizierter und *Phytophthora*-infizierter Schwarzerlen

Sowohl die gravimetrischen Messungen als auch die Größenbestimmungen bestätigten diese optische Einschätzung:

Die Einzelsamen gesunder Erlen wogen durchschnittlich 1,338 mg ($\pm 0,131$ mg), die der symptomtragenden nur 0,614 mg ($\pm 0,037$ mg); letztere wiesen demnach nur etwa 45,89 % des Gewichts gesunder Samen auf (Abb. 19a). Das Gewicht der Samen gesunder Erlen war damit etwas geringer als das bei McVean (1995) angegebene, der für *Alnus glutinosa* ein 1000-Samengewicht von 1,406 g angab (im Vergleich zum 1000-Samengewicht von 1,338 g).

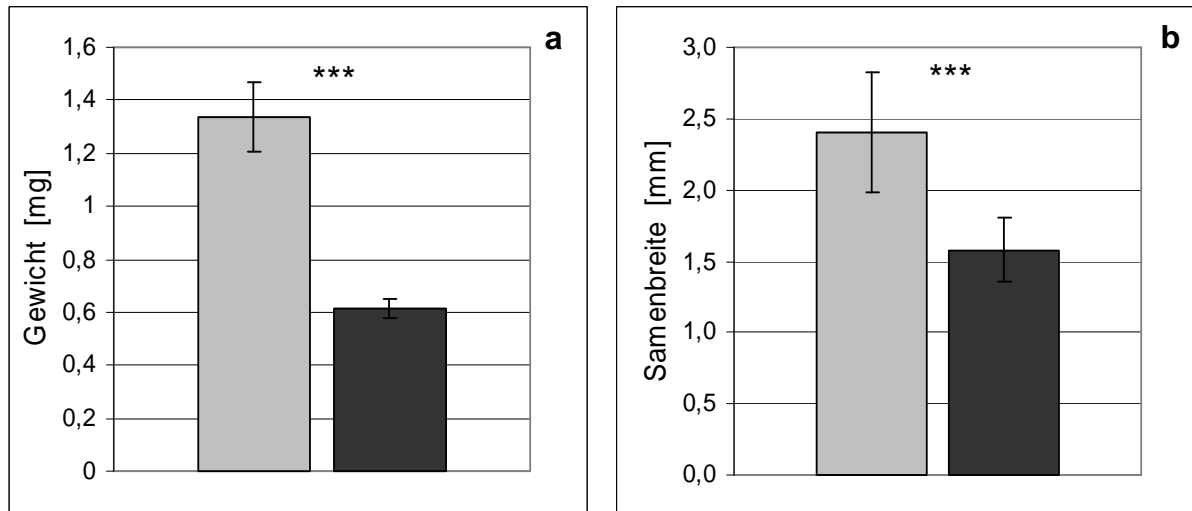


Abb. 19: (a) Gewichte von Samen in mg von Saatgut optisch gesunder Erlen (grau, n = 1003) und von *Phytophthora*-infizierten Erlen (schwarz, n = 1057) und (b) Samenbreiten in mm von Saatgut optisch gesunder Erlen (grau, n = 198) und von *Phytophthora*-infizierten Erlen (schwarz, n = 200); dargestellt sind MW \pm SD sowie Signifikanzniveaus zwischen beiden Gruppen

Bezüglich der Samenbreite ergaben sich bei den gesunden Erlen im Durchschnitt 2,40 mm (\pm 0,42 mm) und für die erkrankten Erlen etwa 1,58 mm (\pm 0,23 mm) (Abb. 19b). Hinsichtlich der Samendurchmesser zeigten sich in diesem Fall überdurchschnittlich größere Werte als die bei McVean (1995) gemessenen, der Durchmesser von 1 – 2 mm ermittelte. Allerdings wird für die Schwarzerle aufgrund ihres weiten natürlichen Verbreitungsgebietes eine große genetische Variation bzw. die Ausbildung von Standort- oder Lokalrassen angenommen (Ruetz et al. 2000), so dass derartige Abweichungen nicht ungewöhnlich sind.

Beide Vergleiche (Größe und Gewicht) ergaben höchst signifikante Unterschiede (jeweils $p < 0,001$). Vergleichbares zeigte sich bei *Picea abies*, deren Samen von Mutterpflanzen, die biotischem Stress (Borkenkäfer und Pilzen) ausgesetzt waren, kleiner und leichter waren. In diesem Fall wurden außerdem pro Zapfen weniger Samen produziert als von vitalen Pflanzen (Pucko et al. 2005). Letzteres wurde bei den Erlenzapfen nicht näher überprüft, da sich bei den verholzten Zapfen die meisten Samen bereits herausgelöst hatten, während andererseits die Samen der grünen vitalen Zapfen noch nicht zugänglich waren.

Das Resultat stellte ebenfalls eine Reaktion auf die Mangelversorgung der Krone dar, wie es sich bereits bei den Fruchtständen zeigte. Im Kronenbereich treten optisch erfassbare Symptome erst dann auf, wenn Rindengewebe so weit zerstört

sind, dass die Wurzeln mangelversorgt werden und in Folge bereits der Wassertransport im Xylem eingeschränkt ist (Jung und Blaschke 2001). Demnach waren die Probenbäume zum Zeitpunkt der Ernte bereits stark geschädigt.

Nach Larcher (2001) ist die Größe des Samens eine wesentliche Voraussetzung für eine gute Keimfähigkeit und Keimkraft. Zwar werden auch innerhalb einer Baumkrone je nach Insertionsstelle unterschiedlich große Samen gebildet, die ein entsprechendes Keimfähigkeitsspektrum besitzen; allerdings ist es als problematisch zu betrachten, wenn der Großteil der Samen eines Baumes unterdurchschnittlich klein gerät.

Das geringe Gewicht der Samen kann ein Hinweis auf ein geringer ausgebildetes Speicherdepot für Reservestoffe sein. Den Samen der Schwarzerle steht zwar innerhalb ihrer Entwicklung kein spezielles Nährgewebe (Endosperm) zur Verfügung (De Atrip et al. 2007), die Versorgung des Embryos ist aber über Kotyledonen gesichert.

4.2.2 Aussaat von Samen optisch gesunder und *Phytophthora alni*-infizierter Erlen

Aufgrund der deutlichen optischen und gravimetrischen Unterschiede zwischen den Samen fand eine Aussaat dieser statt, um den Vergleich zwischen den beiden Gruppen um den Aspekt ihrer Vitalität zu erweitern.

Insgesamt zeigte sich ein höchst signifikanter Unterschied in der Keimungsrate von Samen optisch gesunder Erlen im Vergleich zu der von Samen von infizierten Erlen (Abb. 20 und 21).

Aus den 500 ausgesäten Samen nicht infizierter Erlen gingen 343 Keimlinge hervor, was einem Keimprozent von 68,6 % entspricht, während von dem Saatgut infizierter Erlen lediglich 45 von 500 Samen keimten; das Keimprozent lag folglich nur bei 9 %. 26 Tage nach der Aussaat (n. A.) konnte bereits keine Keimung mehr von Samen infizierter Erlen beobachtet werden. Bei den Samen gesunder Erlen hingegen waren noch bis zu 40 Tagen n. A. neue Keimlinge zu verzeichnen. Ein weitere Abweichung zwischen den beiden Gruppen lag im Keimungsbeginn: Die Samen gesunder Erlen waren bereits am 8. Tag n. A. zu 10,2 % gekeimt, während bei den Samen symptomtragender Erlen die ersten Keimlinge erst am 12. Tag n. A. mit 1,6 % zu

verzeichnen waren. Die Überprüfung des Keimprozents wurde abgeschlossen, als sich bezüglich der Keimungsrate nichts mehr veränderte.

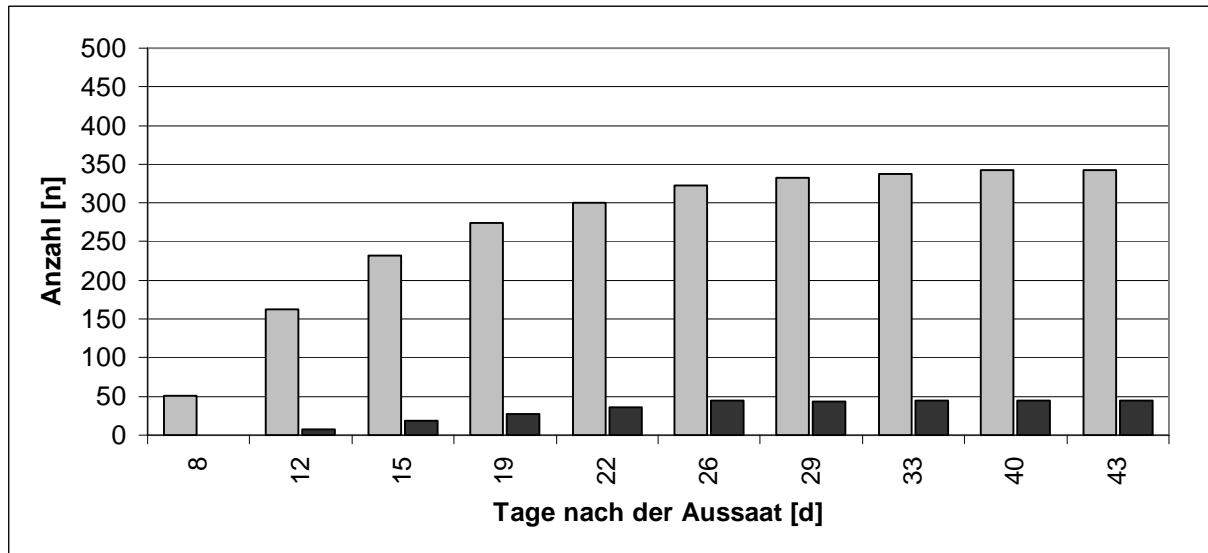


Abb. 20: Keimung und quantitative Entwicklung von Samen optisch gesunder (grau, n = 500) und *Phytophthora alni*-infizierter Schwarzerlen (schwarz, n = 500)

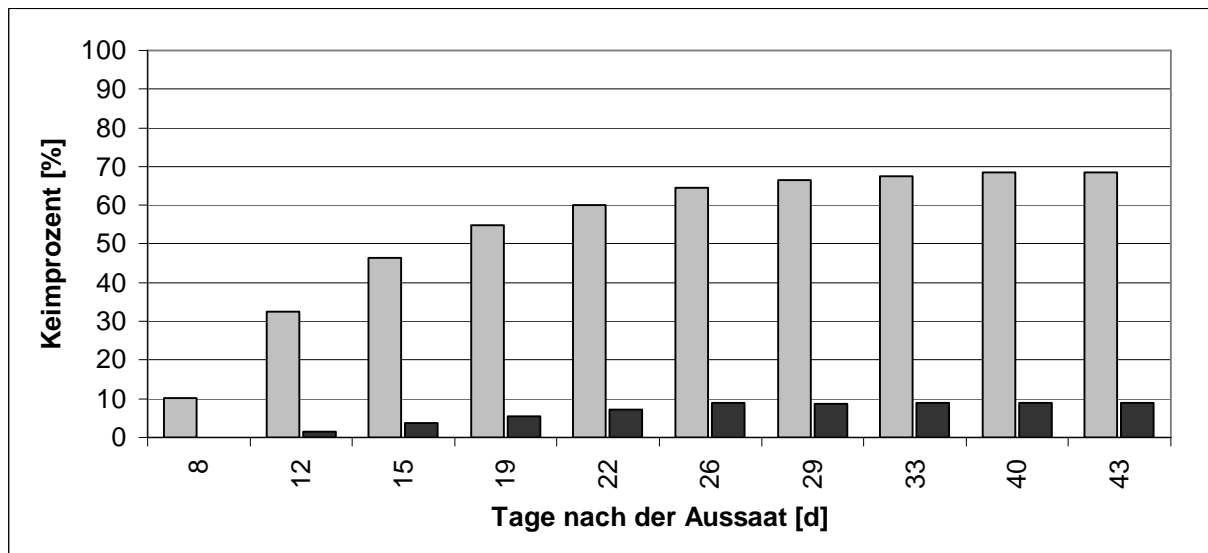


Abb. 21: Keimprozent von Samen nicht infizierter (grau, n = 500) und *Phytophthora alni*-infizierter Schwarzerlen (schwarz, n = 500)

Das Resultat zeigt Parallelen zu den Germinationstests bei Pucko et al. (2005), die zwar keine signifikanten, aber doch sichtbare Unterschiede in den Keimungsraten von Samen vitaler und nicht vitaler Fichten feststellten. Auch in deren Untersuchung

keimten die Samen gesunder Fichten zu Anfang quantitativ schneller als die Samen der belasteten Bäume. Ein schnelles Keimen stellt unter natürlichen Bedingungen einen deutlichen Vorteil für die Etablierung von Keimlingen dar (Schmidt 2000), so dass die Konkurrenzfähigkeit der mit Verzögerung keimenden Samen in Frage gestellt werden kann.

Keimungsprozesse sind neben umweltbedingten Faktoren wie etwa Temperatur oder Lichteinfall immer abhängig vom Zustand der Mutterpflanze. So bilden etwa überalterte und umweltbelastete Pflanzen in der Regel auch unterentwickelte oder zumindest wenig entwicklungsfähige Samenanlagen aus. Neben der Megasporogenese kann ebenfalls die Mikrosporogenese abnorm verlaufen, was durch unzureichende oder befruchtungsunfähige Pollen zum Ausdruck kommt (Larcher 2001). Entsprechend groß ist die Möglichkeit der Bildung von nicht keimfähigen, „tauben“ Nussfrüchten beziehungsweise Samen.

Die Keimungsphase ist als kritisches Stadium im Lebenszyklus von Pflanzen zu betrachten, die sowohl durch äußere Faktoren wie aber auch durch interne suboptimale Voraussetzungen gestört werden kann. Der Verlust an Nachkommen ist während dieses Lebensabschnitts am größten.

Ab dem Zeitpunkt der Samenquellung kommt es zur Aktivierung des embryonalen Stoffwechsels: Phytohormone induzierten die Neubildung von Enzymen, es treten Prozesse in den Vordergrund wie die Synthese von Wachstumshormonen, es kommt zu verstärkter mitochondrialer Aktivität und Proteinsynthese sowie der anschließenden Aktivierung der Wurzelmeristeme und dem Beginn von Zellteilung und Streckungswachstum. Alle Vorgänge sind stark abhängig von den in den Speicherdepots vorhandenen Reservestoffen. Stärke, Reservefette und -proteine werden im Keimungsverlauf in lösliche Zucker, Fettsäuren und Stickstoffverbindungen umgewandelt und an die entsprechenden Senken geleitet. Wie bereits in Kapitel 4.2.1 erwähnt, deuteten die kleineren, leichteren Samen bereits auf ein nur gering ausgeprägtes bzw. mangelhaft ausgestattetes Nährgewebe hin.

Bei einem Mangel der genannten Reservestoffe ist der pflanzliche Metabolismus entsprechend eingeschränkt, so dass der kritische Punkt, den der Keimungsprozess innerhalb des Lebenszyklus darstellt, von einigen Embryonen nicht überwunden werden kann, wie am Keimprozent der Samen infizierter Erlen deutlich zu erkennen ist.

Acht Wochen n. A. wurden einmalig die Sprosshöhen der Keimlinge vermessen (Abb. 22). Auch diesbezüglich zeigten sich höchst signifikante Unterschiede zwischen den Keimlingen gesunder Erlen, die eine durchschnittliche Sprosshöhe von 2,05 cm aufwiesen, und den Keimlingen infizierter Erlen mit einer Sprosshöhe von 1,1 cm.

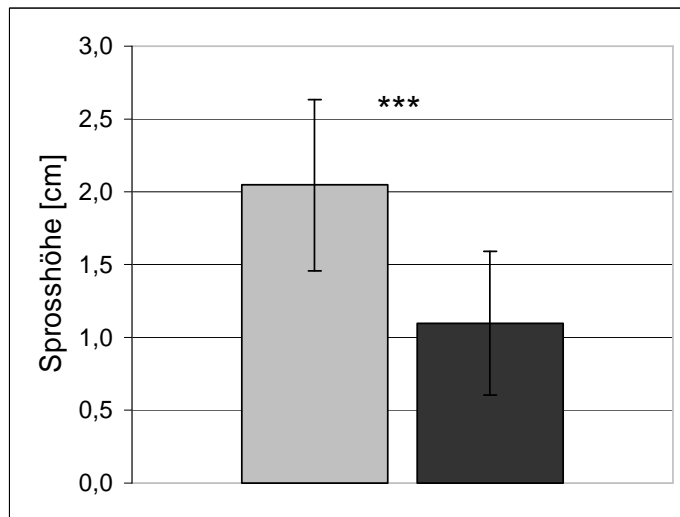


Abb. 22: Sprosshöhe von Keimlingen aus Samen nicht infizierter Erlen (grau, n = 63) sowie aus Samen *Phytophthora*-infizierter Erlen (schwarz, n = 44) 8 Wochen nach der Aussaat; MW ± SD sowie Signifikanzniveau sind dargestellt

Abb. 23 zeigt die Gauß'sche Verteilung der Sprosshöhen beider Gruppen, woraus hervorgeht, worin die hohe Standardabweichung bei den Sprosshöhen begründet liegt: Bei den Sprosshöhen der Keimlinge infizierter Erlen lag der Schwerpunkt zwar deutlich im Bereich der kleineren Pflanzen, die Durchschnittshöhe wurde aber durch wenige Pflanzen mit einer Sprosshöhe > 1,5 cm (n = 10) verschoben. Die Sprosshöhen der Keimlinge gesunder Erlen waren insgesamt gleichmäßiger und breiter verteilt.

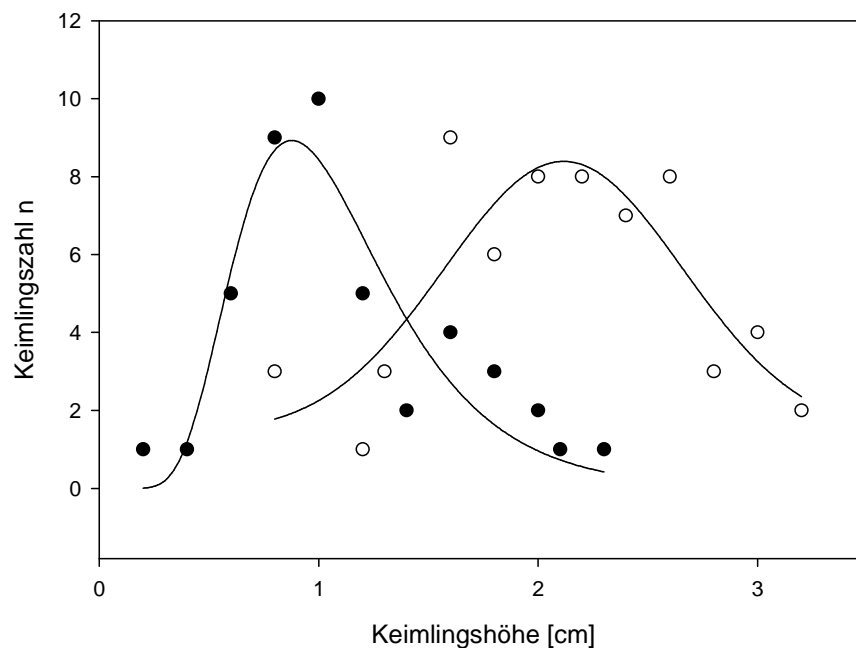


Abb. 23: Größenverteilung von Keimlingen aus Samen optisch gesunder Erlen (weiß; n = 63) sowie aus Samen *Phytophthora*-infizierter Erlen (schwarz; n = 44)

Neben den Differenzen bezüglich der Sprosshöhen konnten zeitgleich ebenfalls höchst signifikante Unterschiede hinsichtlich der Blattzahl pro Pflanze registriert werden (Tab. 2).

Tab. 2: Blattzahl je Pflanze, gezählt an Keimlingen aus Samen nicht infizierter Erlen (Kontrolle) sowie an Keimlingen aus Samen *Phytophthora*-infizierter Erlen (Mutterpflanze infiziert) 8, 10 und 17 Wochen nach der Aussaat (n. A.); dargestellt sind MW, SD sowie Signifikanzniveaus zwischen beiden Gruppen

Zeitpunkt der Zählung	Anzahl der Keimlinge (Kontrolle / Mutterpflanze infiziert)	Blattzahl pro Pflanze		Signifikanz
		Kontrolle	Mutterpflanze infiziert	
8 Wochen n. A.	63 / 44	3,6 ($\pm 0,6$)	3,1 ($\pm 0,6$)	*** (p < 0,001)
10 Wochen n. A.	20 / 17	4,4 ($\pm 0,5$)	3,9 ($\pm 0,6$)	n.s. (p = 0,07)
17 Wochen n. A.	10 / 10	8,7 ($\pm 0,8$)	6,4 ($\pm 1,1$)	*** (p < 0,001)

Die Anzahl der Blätter der Keimlinge aus Kontrollsaat lag nach acht Wochen im Durchschnitt bei 3,6, die der Keimlinge aus Samen infizierter Erlen lediglich bei 3,1.

Zwei Wochen später konnten diese Unterschiede nicht mehr festgestellt werden, die Abweichungen zwischen den beiden Gruppen waren mit 4,4 und 3,9 Blättern pro Pflanze nicht mehr signifikant.

Bei der letzten Zählung 17 Wochen n. A. wurden die Unterschiede wieder als höchst signifikant gekennzeichnet. Aufgrund der zu diesem Zeitpunkt versuchsbedingt bereits deutlich reduzierten Anzahl an Pflanzen muss beim letzteren Ergebnis dessen Signifikanz allerdings in Frage gestellt werden.

In der 10. und 17. Woche n. A. wurden zusätzlich die Flächen pro Blatt sowie die Blattflächen pro Pflanze erfasst. Dabei zeigten sich zu beiden Zeitpunkten hoch bis höchst signifikante Unterschiede zwischen den Kontrollen und den Keimlingen aus infiziertem Saatgut (vgl. Tab. 3). Zehn Wochen n. A. lagen die Flächen pro Blatt bei den Keimlingen aus infizierter Quelle nahezu 63 % unter denen der Kontrollen, 17 Wochen n. A. immerhin noch 46,4 % darunter. Bei der Betrachtung der Gesamtblattflächen pro Pflanze lag die Differenz zehn Wochen n. A. sogar bei etwa 66,9 %, bis zur 17. Woche reduzierte sich der Unterschied zumindest auf 59,2 %.

Tab. 3: Flächen pro Blatt und Blattflächen pro Pflanze, gemessen an Keimlingen aus Samen nicht infizierter Erlen (Kontrolle) sowie an Keimlingen aus Samen *Phytophthora*-infizierter Erlen (Mutterpflanze infiziert) 10 und 17 Wochen nach der Aussaat (n. A.); dargestellt sind Anzahl n, MW, SD sowie die Signifikanzniveaus (Sign.) zwischen den beiden Gruppen

	Anz. [n]	Fläche / Blatt [mm ²]		Sign.	Blattfläche / Pflanze [mm ²]		Sign.
		Kontrolle	Mutter- pflanze infiziert		Kontrolle	Mutter- pflanze infiziert	
10 Wochen n. A.	20 / 17	40,94 (± 16,2)	15,18 (± 7,55)	*** (p < 0,001)	183,8 (± 92,23)	60,8 (± 32,92)	*** (p < 0,001)
17 Wochen n. A.	10 / 10	145,2 (± 50,7)	77,8 (± 40,2)	** (p = 0,004)	1256,7 (± 420,4)	512,8 (± 333,6)	*** (p < 0,001)

Der unterschiedlichen Ausprägung der Blattflächen, stellvertretend für abweichende Wachstumsprozesse, standen miteinander vergleichbare photophysikalische Prozesse gegenüber, die in Abb. 24 dargestellt sind. Zehn Wochen n. A. zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den Elektronentransportraten (ETR) und den

effektiven Quantenausbeuten des PS II (Yield) von Kontrollkeimlingen und Keimlingen aus Saatgut infizierter Erlen. Die effektive Quantenausbeute fiel zwischen beiden Gruppen im Mittel nahezu identisch aus, während die ETR der Kontrollen in ihrer Gesamtheit leicht erhöht war, was seinen Ursprung in der ebenfalls leicht erhöhten, aber ebenfalls nicht signifikant höheren Absorptionsrate der Kontrollen haben kann (0,73 vs. 0,72).

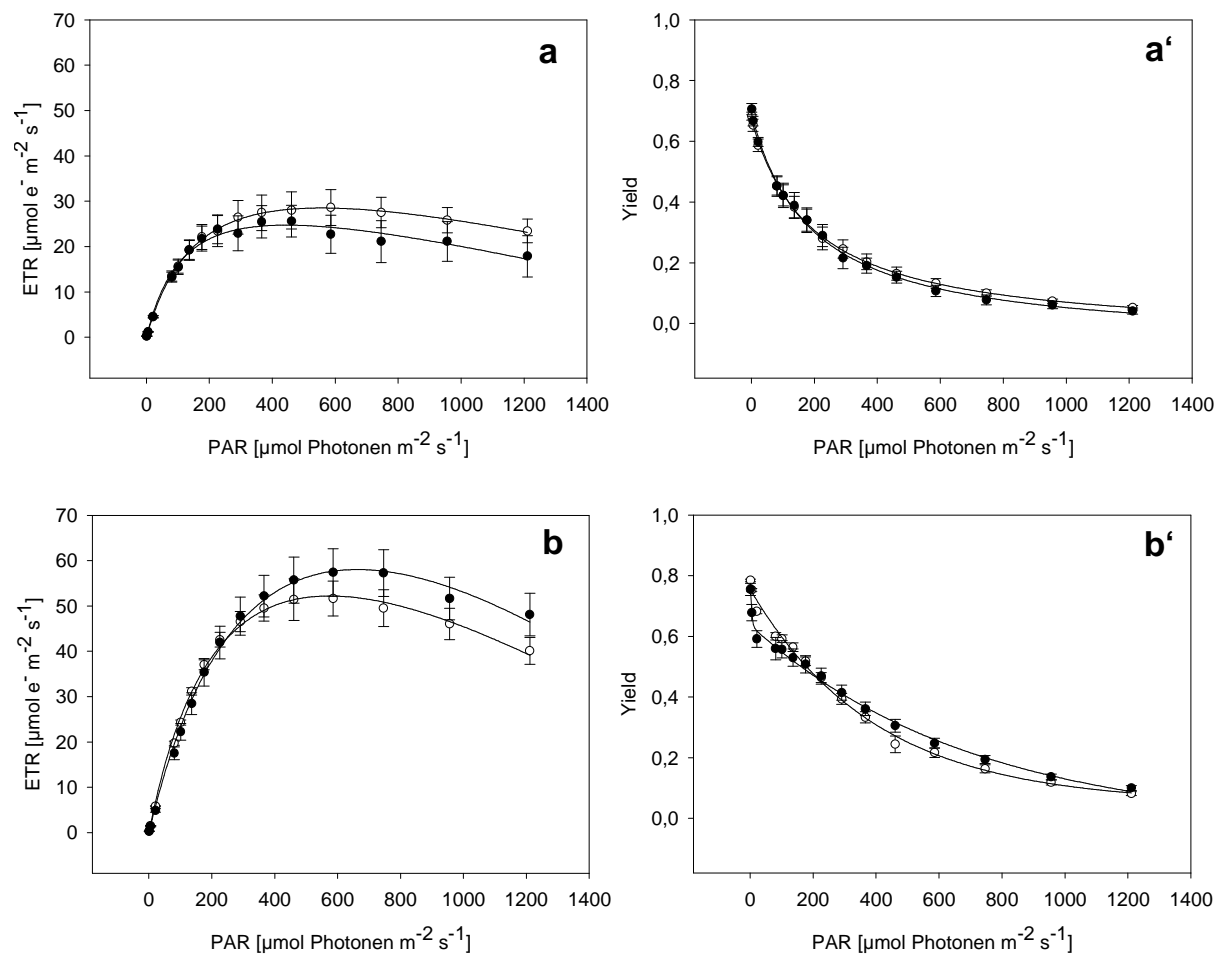


Abb. 24: Vergleich relativer Elektronentransportraten und effektiver Quantenausbeuten (Yield) in Abhängigkeit zur Lichtintensität (PAR), gemessen an Blättern von Keimlingen aus Saatgut gesunder Erlen (weiß; n = je 10) und infizierter Erlen (schwarz; n = je 10) 10 Wochen nach der Aussaat (a und a') und 17 Wochen nach der Aussaat (b und b'); dargestellt sind MW und SE

Die ETR beider Gruppen blieben allerdings mit maximal $30 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, die aus den schwachen Quantenausbeuten bei hoher Belichtung resultierten, verhältnismäßig niedrig. Es ist anzunehmen, dass suboptimale Bedingungen bei der Ladungstrennung an den Reaktionszentren und/oder Überlastungen der

Elektronentransportketten vorlagen. Die zehn Wochen alten Keimlinge waren bezüglich ihrer Photosysteme wahrscheinlich noch nicht ausreichend entwickelt, daher ergaben sich vor allem bei hohen Lichtintensitäten Probleme bei der Umwandlung der Lichtenergie, was sich ab $600 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ in Form von Photoinhibition äußerte. Zudem waren sie aufgrund der Anzuchtbedingungen ($400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ bei Belichtung) eher an Schwachlicht angepasst, wodurch die Überlastung der Photosysteme bei Lichtintensitäten bis zu $1200 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ nachvollziehbar wird.

17 Wochen nach dem Aussaattermin lagen die gemittelten ETR und die Yield-Werte der Keimlinge infizierter Erlen in einigen Abschnitten schließlich über denen der Kontrollen (Abb. 24 b und b'), allerdings waren auch hier die Unterschiede nicht signifikant. Die ETR der Kontrollen erreichte im Maximum Werte bis $52 \mu\text{mol e}^{-} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, die Keimlinge infizierter Erlen eine durchschnittliche Maximalrate von $57 \mu\text{mol e}^{-} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Im Vergleich mit den Messungen der zehnten Woche n. A. fielen sowohl bei den Kontrollen als auch bei den Keimlingen aus infiziertem Saatgut die Elektronentransportraten bereits fast doppelt so hoch aus, die Quantenausbeuten waren ebenfalls insgesamt höher. Generell bildet die Aufbau- und Hauptwachstumsphase der Pflänzchen den Höhepunkt ihrer metabolischen Aktivität und verlangt daher auch ein erhöhtes Maß an photosynthetischer Aktivität, weshalb sich gerade bei Jungpflanzen auch innerhalb kurzer Zeiträume der Stoffwechsel deutlich verändern kann (Larcher 2001).

An den Ergebnissen, die chlorophyllfluoreszenzanalytisch erhoben wurden, zeigte sich, dass sich die geringe Anzahl an Keimlingen, die sich aus dem Saatgut infizierter Erlen durchsetzen konnte, in ihrer photosynthetischen Effizienz durchaus mit den Kontrollkeimlingen vergleichen lässt. Diese Keimlinge wiesen auf der anderen Seite auffällig kleinere Blattflächen, weniger Blätter und geringere Sprosshöhen auf, was alles für einen eingeschränkten Aufbau von Biomasse spricht. Da sich die Photochemie beider Gruppen kaum unterscheidet, müssen diese Unterschiede im Kohlenstoffhaushalt begründet liegen. Es ist davon auszugehen, dass die Samen der *Phytophthora alni*-geschwächten Erlen, die deutlich kleiner und leichter waren als nicht belastete Samen, im Durchschnitt deutlich schlechter mit Reservestoffen ausgestattet waren. Die Samen, die trotz der tendenziell

schlechteren Grundversorgung dennoch genügend Energie zur Verfügung hatten um auszukeimen, hatten die kritische Schwelle der indirekt von der Mutterpflanze abhängigen Versorgung über die Speicherdepots überwunden. Sie konnten im Anschluss an die Verankerung der Wurzel im Boden zum einen aus dem Bodensubstrat Wasser und Mineralien ziehen und zum anderen selbständig photosynthetisch aktiv werden und infolge dessen autonom Energie verfügbar machen.

Bereits nach wenigen Wochen waren die ungleichen Ausgangsbedingungen zumindest bezüglich der photosynthetischen Aktivität, deren Status die Basis für die Existenz von Pflanzen darstellt, überwunden.

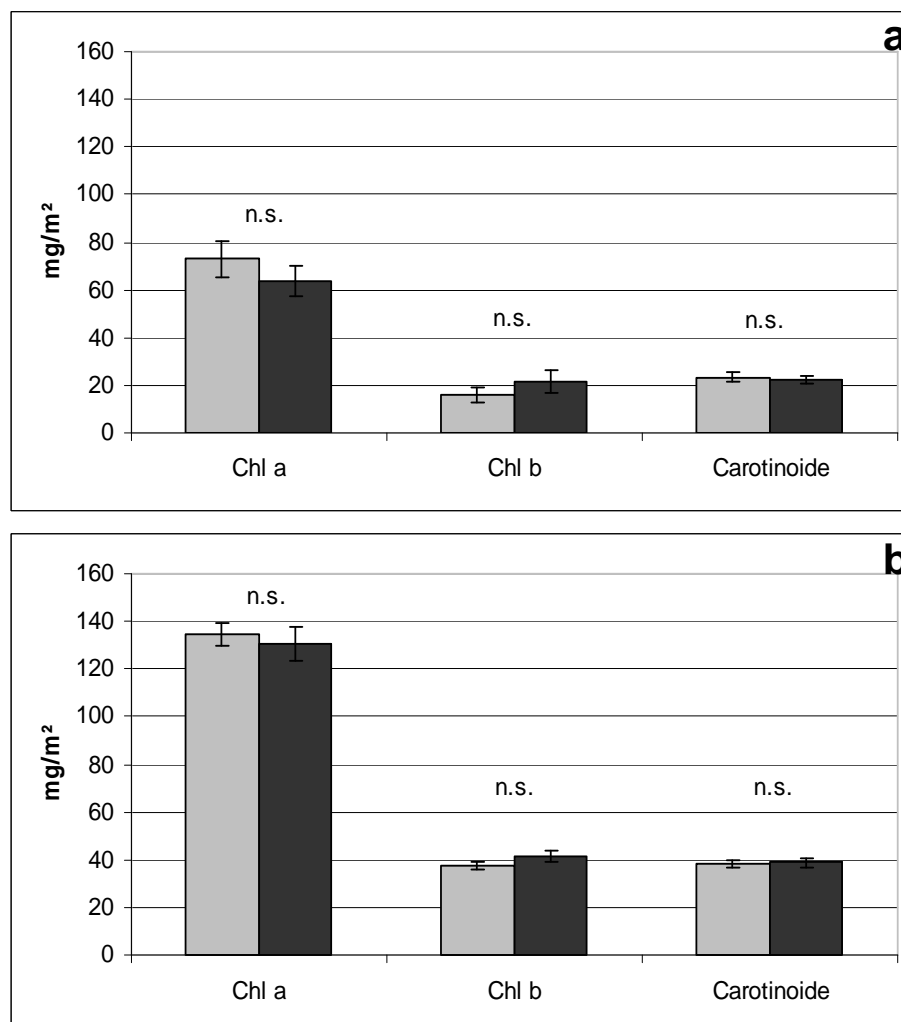


Abb. 25: Vergleich von Pigmenten (Chl a, Chl b, Carotinoide) in mg pro Fläche, extrahiert aus Blättern von Keimlingen aus nicht infiziertem Saatgut (grau; n = 10) und aus infizierter Saatquelle (schwarz; n = 10) 10 und 17 Wochen n. A. (a und b), dargestellt sind MW, SE und Signifikanzniveaus zwischen den beiden Gruppen

Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zur photosynthetischen Effizienz der Keimlingsblätter zeigte sich ebenfalls in den Ergebnissen zu den Pigmentgehalten: Auch hier gab es weder nach zehn noch nach 17 Wochen signifikante Unterschiede hinsichtlich der absoluten Pigmentgehalte (Abb. 25 a und b).

Nach zehn Wochen lag der Gesamtchlorophyllgehalt der Kontrollen bei 89 mg m^{-2} ($\pm 10 \text{ mg m}^{-2} \text{ SE}$), der der Keimlinge aus Saat infizierter Erlen bei 85 mg m^{-2} ($\pm 11 \text{ mg m}^{-2} \text{ SE}$); nach 17 Wochen hatten sich die Gesamtchlorophyllgehalte bei beiden Keimlingsgruppen ungefähr um auf $172 (\pm 6)$ sowie 171 mg m^{-2} ($\pm 9 \text{ mg m}^{-2} \text{ SE}$) verdoppelt, was sich zum einen in erhöhten Absorptionsraten (0,81 und 0,82) im Vergleich zur zehnten Woche (0,73 und 0,72) widerspiegelte und, damit einhergehend, in deutlich erhöhten Elektronentransportraten (vgl. Abb. 24a und b).

Die Keimlinge aus infiziertem Saatgut zeichneten sich insgesamt dadurch aus, dass sie der Größen- und Flächenausdehnung nach verhältnismäßig wenig Energie in die Produktion von Blatt- und Sprosswachstum investieren konnten, sondern dies zunächst zugunsten der Aufrechterhaltung der allgemeinen Funktionsfähigkeit des Organismus einschränken mussten. Eine vollständige Kompensierung der ursprünglich mangelhaften Ausstattung des Nährgewebes war folglich auch bis 17 Wochen n. A. noch nicht möglich, es zeigte sich aber zumindest eine Annäherung.

Es ist noch einmal darauf hinzuweisen, dass der Aussaatversuch unter Laborbedingungen stattgefunden hat, was bedeutet, dass die Samen eine nahezu optimale Ausgangslage zum Keimen hatten: Durch gleiche Abstände bei der Aussaat, gleichmäßige Belichtung und Befeuchtung des Substrates sowie durch das Fehlen anderer Arten wurden sehr gute Wachstumsbedingungen geschaffen sowie eine mögliche Entstehung von intraspezifischer sowie interspezifischer Konkurrenz unterbunden. Infolge dessen kann man davon ausgehen, dass die Keimprozentage, die im Rahmen dieses Versuchs erreicht wurden, unter Freilandbedingungen nicht annähernd eintreten würden, da selbst die Standortbedingungen für potentielle Keimlinge der gleichen Mutterpflanze unter natürlichen Umständen inhomogen und auch nicht-konstant sind und folglich in der Regel keine durchgängig optimalen Bedingungen geschaffen werden.

Das Keimpflanzenstadium ist *per se* ein empfindlicher Lebensabschnitt, in dem außerdem der Verbrauch an Grundstoffen zur Deckung des erhöhten Energiebedarfs für biosynthetische Aktivitäten heraufgesetzt ist. Gleichzeitig können das Wachstum und die Entwicklung von Sämlingen drastisch durch Umweltstressoren gehemmt werden. Sie reagieren besonders sensitiv auf abiotische Faktoren wie Bodenfeuchte, Temperatur, Licht, Sauerstoff und verschiedene Chemikalien, aber auch auf biotische wie Insekten, Pilze, Vögel und Nager (Kramer und Kozlowski 1979, Larcher 2001).

Saatgut, was sich bereits unter günstigen Bedingungen nur schwer etablieren konnte, wird entsprechend bei auftretenden ungünstigen Bedingungen wie schlechten Lichtverhältnissen, Trockenheit, Konkurrenzdruck und Fraßfeinden zum einen in noch beschränkterem Maße keimen und sich zum anderen aufgrund des deutlich reduzierten Wachstums im Keimpflanzenstadium kaum gegen bereits etablierte Vegetation durchsetzen können.

Das unter Laborbedingungen lediglich erzielte Keimprozent von 9 % ist damit wahrscheinlich als überdurchschnittlich hoch zu bewerten. Auf dem Hintergrund suboptimaler Bedingungen im Freiland einerseits und der Empfindlichkeit des Keimpflanzenstadiums andererseits erscheint eine natürliche Bestandesverjüngung durch Mutterpflanzen, die von *P. alni* infiziert sind, immer unwahrscheinlicher.

Unter natürlichen Bedingungen ist eine erfolgreiche Bestandesverjüngung an Standorten mit *Phytophthora alni*-infizierten Erlen daher kaum zu erwarten. Es kommt erschwerend hinzu, dass die Stammzahlen von Schwarzerlen (Bestandesgrößen, definiert über die Anzahl der Stämme pro Fläche) grundsätzlich mit zunehmendem Alter sehr rasch sinken, und dies bereits ohne die Einflussnahme des Pathogens. Nach Utschig et al. (2000) stehen von einem mit 6000 Bäumen/ha begründeten Erlenbestand nach 20 Jahren nur noch etwa 800 bis 1400 Bäume/ha, nach 80 Jahren lediglich 200 Bäume/ha.

4.2.3 Infektionsversuche über Bodensubstrat

Im Gegensatz zu den Keimungsversuchen mit Samen gesunder und *Phytophthora alni*-infizierter Erlen, deren Ziel es war, die Vitalität von Samen geschwächter Mutterpflanzen zu überprüfen, lag die Absicht bei der Infektion über Bodensubstrat darin zu testen, inwiefern sich bereits Samen beziehungsweise Sämlinge in ihrer

Entwicklung durch *P. alni*-belastetes Bodensubstrat beeinflussen lassen. Dazu wurde eine definierte Menge Samen gesunder Erlen auf infektiösem Bodensubstrat sowie eine entsprechende Menge Samen auf unbelastetem Kontrollsubstrat ausgesät.

Sechs Tage n. A. war in der Kontrollgruppe bereits der erste Keimling zu verzeichnen, nach 13 Tagen steigerte sich die Zahl auf 29 und nach 20 Tagen auf 87 von 250 ausgesäten Samen. Nach dem ersten sprunghaften Anstieg stieg die Keimlingszahl bis zum 54. Tag n. A. stetig bis auf 109 Keimlinge an, was schließlich ein Keimprozent von 43,6 % bedeutete (vgl. Abb. 26).

Auch bei den Samen, die auf *P. alni*-infiziertem Boden ausgesät worden waren, zeigte sich ein deutlicher Anstieg der Keimungsrate am 13. sowie am 20. Tag n. A.. Die Rate fiel aber mit 9 und 37 Keimlingen drastisch niedriger aus als bei der Kontrollgruppe. Im Gegensatz zu dieser kam es außerdem ab dem 20. Tag nicht mehr zu einer Erhöhung der Keimlingszahl, sondern zu einem stetigen Rückgang. Am 27. Tag hatte sich die Anzahl um fast 50 % bis auf 20 Keimlinge reduziert, bei der abschließenden Zählung 54 Tage n. A. konnten noch 18 Stück registriert werden, was zu diesem Zeitpunkt ein Keimprozent von lediglich 7,2 % bedeutet. Ungeachtet des drastischen Rückgangs der Keimlingszahl lag das eigentliche Keimprozent, bezogen auf die maximale Keimlingszahl am 20. Tag, natürlich höher, und zwar bei 14,8 %.

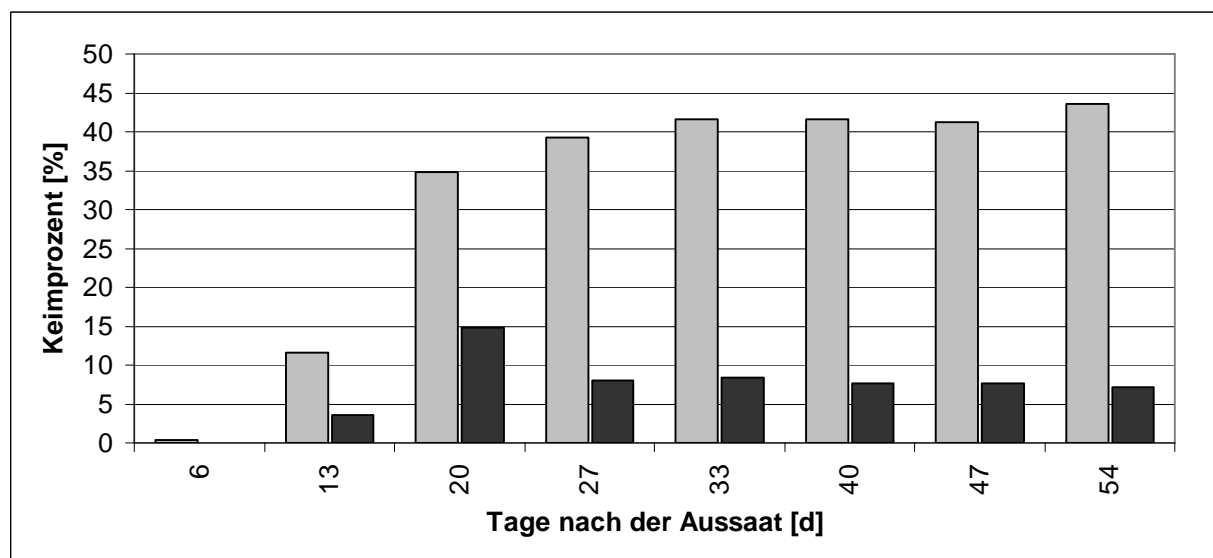


Abb. 26: Vergleich des Keimprozents von Samen, ausgesät auf Kontrollsubstrat (grau, n = 250) und Samen, ausgesät auf *Phytophthora alni*-inokuliertem Bodensubstrat (schwarz, n = 250)

Der Rückgang der Rate kam dadurch zustande, dass von den Pflanzen einige bereits nach der Keimung Welkesymptome aufwiesen und anschließend abstarben.

Die Zählung wurde nach dem 54. Tag n. A. eingestellt, als keine weiteren Keimlinge mehr hinzukamen.

Die niedrigen Keimprozente sowie die Beobachtung des Rückgangs der Keimlingszahl führen zu dem Schluss, dass Bestandesverjüngungen durch Samen, die von Bäumen in *P. alni*-belasteten Bereichen ausgestreut werden, nur schwer zu realisieren sind. Erlensamen werden, wenn kein Transport über den Wasserweg zur Verfügung steht, sehr selten weiter als 20 – 30 m von der Mutterpflanze weggetragen, meistens werden nicht einmal 10 m überschritten (McVean 1955). Daher ist die Möglichkeit, auf Boden mit Infektionspotential zu gelangen, sehr wahrscheinlich. Um sich deutlich von der Mutterpflanze zu entfernen, sind Erlensamen aber in erster Linie darauf ausgerichtet, über Fließgewässer abtransportiert zu werden. Für den Wasserweg ist die Gefahr der Infektion durch *P. alni* sowie die Streuungsmöglichkeit des Pathogens hinreichend erkannt worden (Webber et al. 2004, Schumacher et al. 2006). Erlensamen können sowohl an der Wasseroberfläche infiziert werden als auch unter günstigen Bedingungen im Prinzip eine Vektorfunktion übernehmen und zur Verbreitung des Pathogens beisteuern (Schumacher 2006).

Vergleichbare Reaktionen bei Keimlingen zeigten sich in Untersuchungen von Fleischmann et al. (2005) bei Infektionsversuchen drei Monate alter *Fagus sylvatica*-Pflanzen mit *P. citricola*. Bereits drei Tage nach der Infektion über Bodensubstrat zeigten die ersten Pflanzen Welkesymptome, weitere vier Tage später waren die ersten Pflanzen abgestorben. Dies deckt sich mit den Ergebnissen dieser Arbeit: Zwischen dem ersten Keimtermin (13. Tag n. A.) und dem Beginn des Absterbens (20. Tag n. A.) liegen ebenfalls sieben Tage.

Auch bei der Infektion von 1-jährigen italienischen Erlen über Bodensubstrat kam es zum vergleichsweise raschen Absterben der ersten Versuchspflanzen bereits 20 Tage nach der Inokulation (Santini 2003).

Aus dem Keimprozent der infizierten Charge geht hervor, dass der im Boden vorhandene Erreger bereits den Prozess des Auskeimens im Beginn unterband. Da das Saatgut oberflächlich auf das Substrat aufgestreut wurde, war zu erkennen, dass

es bei der Mehrzahl der Samen nicht zum Austritt der Keimwurzel oder der Kotyledonen kam. Dies würde bedeuten, dass *P. alni* oder von *P. alni* abgesonderte Substanzen in die Samen durch deren Schale eingedrungen sind. Erlensamen sind nach Abschluss ihrer Entwicklung mit einem öligen widerstandsfähigen Mantel überzogen, der sie unter anderem vor dem Eindringen von Wasser schützt (McVean 1955). Beim Einsetzen des Keimvorganges wird dieser Schutz aufgehoben, so dass die Samen insgesamt durchlässiger werden. Inwiefern dadurch ein Eindringen von Zoosporen, Myzel und/oder Toxinen begünstigt wird, ist aber bislang nicht näher untersucht.

Naheliegender ist der direkte, beziehungsweise zeitnahe Befall des Sämlings nach der Öffnung der Samenschale. Letztere Überlegung trifft zumindest auf die Keimlinge zu, die im Laufe des Versuches welkten und abstarben.

Bei der Gegenüberstellung des Keimungsverhaltens von Samen infizierter Erlen (Kapitel 4.2.2) und Samen, die über Bodensubstrat aktiv infiziert wurden, zeigten sich quantitative Unterschiede: Von den Samen infizierter Erlen waren nach 19 Tagen nur 5,4 % gekeimt im Gegensatz zu den 14,8 % der Samen, die sich in infektiösem Boden befanden.

Letztere besaßen zumindest anfangs das größere Keimpotential aufgrund einer besseren Grundausstattung durch gesunde Mutterpflanzen, während die meisten der Samen infizierter Erlen von Beginn an ungenügend mit Reservestoffen ausgestattet gewesen sein mögen.

Eine Woche nach der letzten Zählung (neun Wochen nach dem Aussaattermin) wurden die Keimlinge hinsichtlich ihrer Größe untersucht ($n = 12$). Die Kontrollen erreichten im Durchschnitt eine Höhe von 3,2 cm ($SE \pm 0,6$ cm), während die inokulierten Pflänzchen nur 1,8 cm ($SE \pm 0,7$ cm) hoch wurden. Die Unterschiede waren aus Gründen hoher Diversität nicht signifikant. Während allerdings die Kontrollen zwischen 0,5 cm bis 7,3 cm das gesamte Höhenspektrum aufwiesen, lagen die *P. alni*-betroffenen Keimlinge alle zwischen 0,8 und 1,7 cm bis auf ein Individuum mit einer Höhe von 7,2 cm.

Folglich muss *P. alni*, unter Vernachlässigung der einzelnen überdurchschnittlich großen Jungpflanze, in irgendeiner Form Einfluss auf das Wachstum der Keimlinge genommen haben. Denkbar sind Energie zehrende Investitionen in

Abwehrreaktionen, die sich entsprechend negativ auf Wachstumsprozesse auswirkten.

Auch im Zusammenhang mit anderen (abiotischen) Stressoren konnten bei Keimlingen sowohl Rückgänge in der Keimungsrate als auch Reduktionen im Keimlingswachstum ermittelt werden. Catalán et al. (1994) konnte bei Untersuchungen zu Effekten von Salinität zusätzlich feststellen, dass im Falle von *Prosopis flexuosa* der Stressor viel stärkere Auswirkungen auf das Keimungsstadium hatte als auf bereits etablierte Keimlinge; bei gleicher Behandlung wurde die Germination um 50 % gehemmt, während von 20 Tage alten Keimlingen nach 90-tägiger Behandlung immer noch mehr als 96 % überlebten. Diese Beobachtung unterstreicht das bereits in Kapitel 4.2.2 beschriebene äußerst kritische Stadium der Keimung im Lebenszyklus von Pflanzen.

Zum Zeitpunkt der Höhenvermessung wurden außerdem die Pigmentgehalte der Keimlingsblätter bestimmt.

Überraschenderweise fielen sowohl die Chlorophylle a und b als auch die Carotinoide bei den inokulierten Pflanzen in ihrem Betrag deutlich höher aus als bei den Kontrollen, und zwar in allen drei Pigmentgruppen hoch signifikant (vgl. Abb. 27). Während die Blätter der Kontrollen im Mittel lediglich einen Gesamtchlorophyllgehalt von 185 mg m^{-2} aufwiesen, zeigte sich bei den inokulierten Keimlingen ein 40 % höherer Gesamtgehalt von 260 mg m^{-2} .

Das Zustandekommen der nur mittelmäßigen Pigmentgehalte der Kontrollen gegenüber den wesentlich höheren der inokulierten Keimlinge bleibt in diesem Fall ungeklärt.

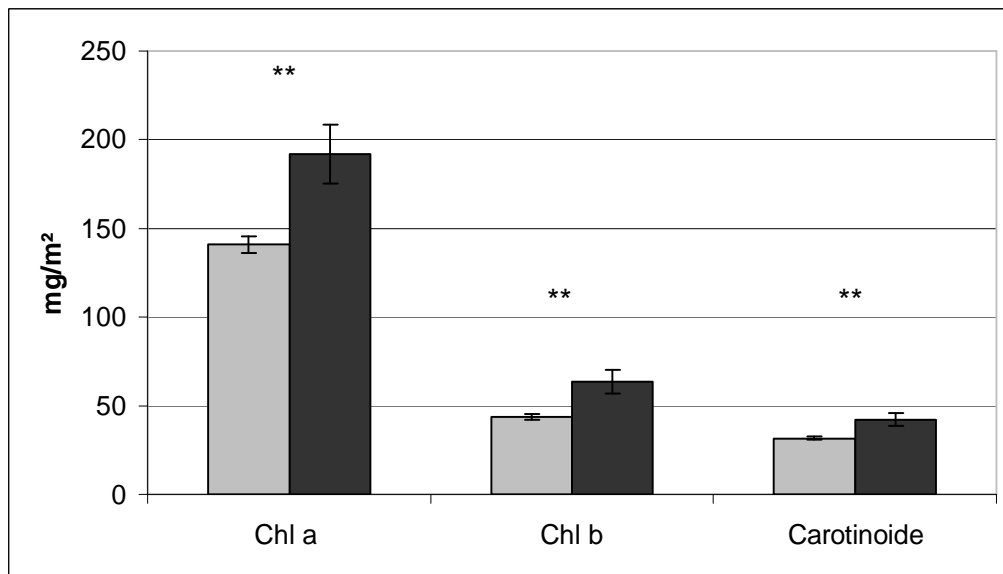


Abb. 27: Vergleich von Pigmenten (Chl a, Chl b, Carotinoide) in mg pro m² Fläche, extrahiert aus Blättern von Kontrollen (Keimlinge auf Kontrollsubstrat; grau; n = 15) und von *P. alni*-inokulierten Keimlingen (schwarz; n = 13) 9 Wochen nach der Aussaat; dargestellt sind MW, SE und Signifikanzniveaus zwischen den beiden Gruppen

Bezüglich der Keimung wäre zu überlegen, ob bei den inokulierten Keimlingen natürliche Resistenzen gegen *P. alni* vorgelegen haben können. Vergleichbares war an adulten Bäumen im Freiland zu beobachten: So konnte beispielsweise auch am Beprobungsstandort Dülmen (Karthaus) festgestellt werden, dass neben *P. alni*-infizierten Bäumen mit bereits stark ausgeprägter Symptomatik Schwarzerlen ähnlichen Alters wuchsen, die entweder bereits überwallte Läsionen aufwiesen oder vollkommen symptomlos waren. Dieses Phänomen deckt sich mit Beobachtungen, die bei Kartierungen in Bayern und auch in anderen Ländern gemacht wurden (vgl. Streito et al. 2002, Jung und Blaschke 2004). Daher ist es nicht auszuschließen, dass auch im Jungpflanzenstadium von Erlen Resistenzen gegen *P. alni* vorliegen können. Worin diese bestehen könnten, ist allerdings zum jetzigen Zeitpunkt unklar.

Bei den chlorophyllfluoreszenzanalytischen Untersuchungen, zu denen das gleiche Pflanzenmaterial verwendet wurde wie zur Pigmentanalyse, waren allerdings keine Unterschiede zwischen den Kontrollen und den inokulierten Pflanzen feststellbar. Die Kontrollen erreichten im Durchschnitt maximale Elektronentransportraten von 136 $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ und ein Fv/Fm-Mittel von 0,80, die Blätter der inokulierten

Keimlinge vergleichbare Maxima von $130 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ und Fv/Fm-Werte um 0,78 (vgl. Abb. 28 a und a').

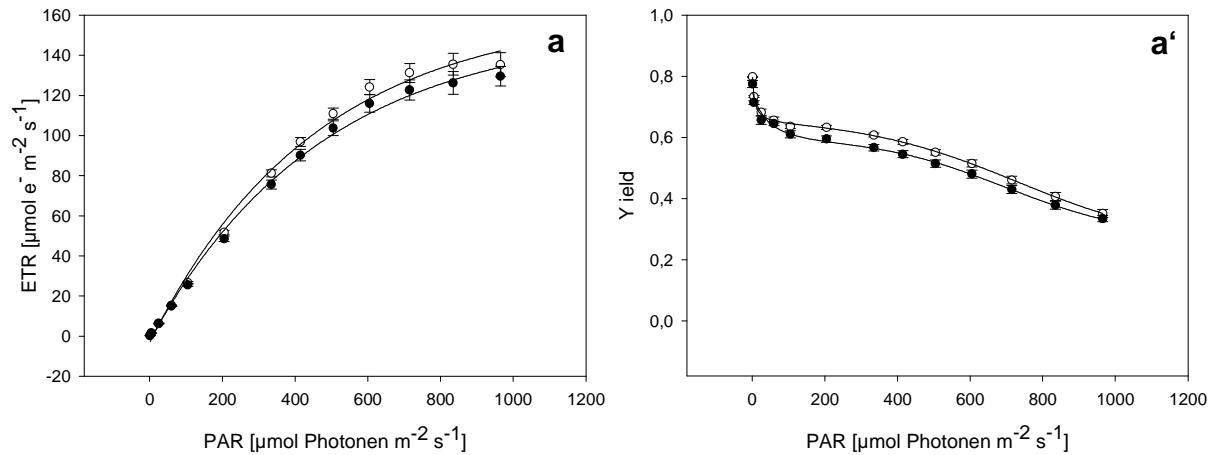


Abb. 28: Vergleich relativer Elektronentransportraten (a) und effektiver Quantenausbeuten (a') in Abhängigkeit zur Lichtintensität (PAR), gemessen an Blättern von Kontrollen (Keimlingen auf Kontrollsubstrat; weiß; $n = 15$) und von *P. alni*-inokulierten Keimlingen (schwarz; $n = 13$) 9 Wochen nach der Aussaat; dargestellt sind MW und SE

Trotz der signifikant höheren Chlorophyllgehalte der inokulierten Pflanzen lagen auch die Absorptionsraten beider untersuchter Gruppen nahe beieinander; die Kontrollen absorbierten im Durchschnitt 80,1 % der photosynthetisch aktiven Strahlung, die Blätter der inokulierten Pflanzen mit 79,9 % entsprechend genauso viel. Die Photosysteme der Kontrollen waren folglich noch immer ausreichend mit Pigmenten ausgestattet, um einfallende Strahlung effektiv für photochemische Arbeit zu nutzen. Insgesamt zeigen die relativ hohen Elektronentransportraten und die über die gesamte Lichtkurve hoch angesiedelten Yield-Werte, die selbst bei einer Lichtintensität von $1000 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ noch bei 0,35 (Kontrollen) und 0,34 (inokuliert) lagen, dass die Keimlinge des gesamten Versuchsansatzes über gut entwickelte und effiziente Photosysteme und Elektronentransportketten mit einem schnellen Elektronentransfer verfügten, so dass relativ viel Lichtenergie photochemisch genutzt werden konnte und entsprechend nur ein geringer Anteil als Fluoreszenzemission verloren ging. Das hohe Photosynthesevermögen selbst bei Keimlingen von *Alnus glutinosa* unterstreicht ihre ökologische Stellung als Pionierbaumart. Pflanzen früher Sukzessionsstadien haben generell ein höheres

photosynthetisches Potential als Pflanzen später Stadien (Bazzaz und Carlson 1982).

4.2.4 Vergleichende Überlegungen

Die Keimungsrate der Kontrollen beim Inokulationsversuch fiel mit 43,6 % wesentlich niedriger aus als die Rate der Samen gesunder Bäume beim Vitalitätstest, bei dem 68,6 % der Samen auskeimten (vgl. Abb. 21 und 26). Dies kann zum einen an der veränderten Bodenzusammensetzung (Erd-Sand-Gemisch zuzüglich des Bodenbeimpfungssubstrats) und zum anderen an der abweichenden Saatquelle (Rheinland-Pfalz, Bezug über die Samenklänge Elmstein) und dem Alter des Saatguts liegen. Während das Saatgut des ersten Aussaatexperimentes zu Versuchszwecken frisch aus den Zapfen geerntet wurde, wurde das Saatgut zum zuletzt beschriebenen Infektionsversuch bereits 2004 geerntet; aufgrund der Konservierung durch Einfrieren sollte das Keimprozent allerdings noch bei 63 % liegen. Diese Angabe liegt zumindest unterhalb der Keimrate, die bei den frisch geernteten Samen erreicht wurde.

Als Störfaktor kam hinzu, dass parallel zum Keimungsbeginn auf allen vier Nährböden eine leichte Verpilzung festzustellen war, bedingt durch die anfängliche, flutungsbedingt hohe Bodenfeuchte, das Vorhandensein von Weizenkörnern im Substrat sowie die unsterilen Aufzuchtbedingungen im Gewächshaus. Als Konsequenz wurde die Bodenfeuchte in den Folgetagen minimiert, so dass innerhalb der Anschlusswoche der Pilzbewuchs deutlich zurückging und nur noch partiell festzustellen war.

Die anfängliche Entwicklung von Schimmelpilzen in den Saatschalen konnte aber im Sinne der Fragestellung vernachlässigt werden, da der gesamte Versuchsansatz davon betroffen war. Falls sich dieser Pilzbewuchs negativ auf die Keimungsrate ausgewirkt hat, kann zumindest davon ausgegangen werden, dass die Repression gleichmäßig stattgefunden hat.

Im Vergleich zum Vitalitätstest (4.2.2) waren die im Rahmen der Untersuchung zur Infektionsanfälligkeit (4.2.3) gemessenen maximalen Elektronentransportraten sowohl an Blättern von Kontrollen als auch an inokulierten Pflanzen mehr als doppelt so hoch, obwohl neun Wochen alte Keimlinge (Inokulationsversuch) mit 17 Wochen

alten Keimlingen (Untersuchung zur Vitalität) verglichen wurden. So erreichten beim Vitalitätstest Keimlinge aus Kontrollsaatgut nach 17 Wochen lediglich Elektronentransportraten von $52 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ im Gegensatz zu den $136 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, die sich nach neun Wochen bei Kontrollen des Inokulationsversuchs zeigten. Diese Unterschiede müssen durch eine andere Saatgutquelle und die abweichenden Anzuchtbedingungen erklärt werden (siehe Material und Methoden 3.6.4 und 3.6.5). In der Klimakammer lagen im Gegensatz zum Gewächshaus klimatische Unterschiede hinsichtlich der Belichtung (0 PAR / ± 400 PAR - Wechsel vs. Tagesgang durch ambientes Licht), der Temperatur ($15^\circ / 18^\circ\text{C}$ vs. $10^\circ / 14^\circ$ / (max. 20°C)) und auch der Luftfeuchte ($\pm 70\%$ vs. $\pm 50\%$) vor. Die Bedingungen im Gewächshaus sind den Bedingungen, die Erlen im Anschluss an die Keimung im Freiland vorfinden würden, wesentlich ähnlicher als die, die in der Klimakammer erzeugt werden können.

Die extremen Unterschiede in der photosynthetischen Effizienz sind ein weiteres Indiz dafür, wie sensitiv vor allem Jungpflanzen auf äußere Faktoren reagieren. Da die in der Klimakammer gezogenen Keimlinge insgesamt niedrigeren Lichtintensitäten ausgesetzt waren, dürften sie zudem eher an Schwachlicht angepasst gewesen sein. Dies würde zum einen den im Verhältnis relativ frühen Eintritt in die Lichtsättigung bzw. Photoinhibition erklären, und zum anderen die niedrigen Raten aufgrund einer schlechteren Ausstattung mit Photosystemen, als man sie bei Starklicht angepassten Pflanzen vorfinden würde (Lichtenthaler 1981, 1988). Für eine Schattenanpassung spricht auch der geringere Gesamtchlorophyllgehalt pro Fläche im Vergleich zu dem der jüngeren Keimlinge aus dem Gewächshaus.

Vergleicht man die Gesamtchlorophyllgehalte und die Sprosshöhen, die bei der Infektion über Bodensubstrat nach neun Wochen und bei der Aussaat von Samen infizierter Bäume nach zehn Wochen ermittelt wurden (vgl. Tab. 4), lässt sich eine ganz unterschiedliche Entwicklung der Keimlinge in beiden Versuchsreihen ablesen. Es lagen zwar ähnliche Altersstadien vor, aber sie unterschieden sich in ihren physiologischen Phasen. Die neun Wochen alten Keimlinge dieser Versuchsreihe hatten bereits einen wesentlich höheren Chlorophyllgehalt, der sich unter anderem in einer hohen photosynthetischen Leistung widerspiegelte, die zu entsprechendem Wachstum führte, während die zehn Wochen alten Keimlinge des vorigen Aussaatexperiments insgesamt in allen Aspekten schlechter abschnitten.

Tab. 4: Gegenüberstellung der Entwicklung von Keimlingen vergleichbaren Alters anhand der Sprosshöhen und des Gesamtchlorophyllgehalts; verglichen werden Keimlinge des Infektionsversuchs über Bodensubstrat (9 Wochen) und Keimlinge aus Saatgut infizierter und nicht infizierter Mutterpflanzen (10 Wochen); dargestellt sind MW und SE

	Keimlinge auf Kontrollsubstrat (9 Wo.)	Mutterpflanze symptomfrei (10 Wo.)	über Substrat infiziert (9 Wo.)	Mutterpflanze symptomatisch (10 Wo.)
Sprosshöhe [cm]	3,2 (± 0,6)	2,1 (± 0,1)	1,8 (± 0,7)	1,1 (± 0,1)
Gesamtchlorophyllgehalt [mg m⁻²]	184,7 (± 24,8)	83,0 (± 10,8)	258,8 (± 88,0)	85,0 (± 10,5)

Unabhängig von den teilweise abweichenden Ergebnissen der beiden Aussaatversuche ist das wesentliche Fazit beider Untersuchungen, dass sich das Stadium des Auskeimens als bedeutende Hürde für die natürliche Verjüngung von Schwarzerlen darstellt, sei es aufgrund von mangelhafter Ausstattung des Saatguts durch infizierte Mutterpflanzen oder aufgrund des potentiell infektionsträchtigen Bodensubstrats. Aus diesem Grund findet man in den Screenings zum quantitativen Infektionsausmaß an Schwarzerlen durch *P. alni* unter Umständen auch keine Daten zu Bäumen, die jünger als ein Jahr alt sind (Streito et al. 2002, Jung und Blaschke 2003).

4.3 Infektionsversuche an getopften Jungerlen

Die Untersuchungen an Jungpflanzen, dem Übergangsstadium zwischen Keimling und mannbarem Baum, wurden an 2,5 Jahre alten getopften Schwarzerlen durchgeführt, die im Außengelände des botanischen Gartens der Universität Duisburg-Essen positioniert waren. Sie bildeten das dritte Entwicklungsstadium, das im Rahmen von *P. alni*-Infektionen von Interesse war (vgl. Abb. 3, III.).

Anders als die Sämlinge wurden sie an der Stammbasis über ein Inokulum infiziert. Über diesen Versuchsaufbau ließen sich einzelne Aspekte wie die Ausbreitungsdynamik des Pathogens im Rindengewebe sowie die Beeinflussung von Photosyntheseparametern fokussiert analysieren, da der Infektionsbereich und das Ausmaß der Infektion bekannte Größen darstellten.

Die Komplexität einer natürlichen Infektion über die Wurzeln kann bei dieser Vorgehensweise allerdings nicht zwangsläufig erreicht werden, da das Wurzelwerk der Erlen-Topfpflanzen unbeschadet bleibt.

4.3.1 Biometrische Daten

Im Zeitraum der Untersuchungen (92 Tage) wurden in regelmäßigen Abständen die Höhen- und Durchmesserzuwächse der inokulierten Erlen und der Kontrollen ermittelt. Daraus ergab sich bei den Kontrollen ein Sprosslängenzuwachs von 62,4 cm und bei den infizierten Erlen einer von 61,4 cm. Bezogen auf das Höhenwachstum der Jungpflanzen ergaben sich demnach keine nennenswerten Abweichungen zwischen den beiden Gruppen (vgl. Tab. 5).

Ein differentes Wachstumsverhalten zeigte sich hinsichtlich des Durchmessers: Der durchschnittliche Zuwachs der Kontrollen lag mit 10,13 mm hoch signifikant über dem der infizierten Erlen, die in der gleichen Zeit nur 7,45 mm Dickenwachstum vorwiesen (Tab. 5). Dieser absolute Unterschied zeigte sich sogar auf höchst signifikantem Niveau auch im relativen Durchmesserzuwachs: Die Kontrollen erweiterten ihren Durchmesser im Untersuchungszeitraum um etwa 72 %, während die infizierten Erlen in Relation zu ihrem Ausgangsdurchmesser nur um ca. 43 % zunahmen ($p = 0,0001$).

Tab. 5: Sprosslängenzuwachs in cm und Durchmesserzuwachs in mm von *Phytophthora alni*- inokulierten Erlen und Kontrollerlen im Gesamtzeitraum der Untersuchungen (GZR = 92 Tage) sowie die Zuwächse pro Tag; dargestellt sind MW und SD sowie die Signifikanzniveaus (Sign.)

	Kontrolle [GZR]	infiziert [GZR]	Kontrolle [pro Tag]	infiziert [pro Tag]	Sign.
Sprosslängen- zuwachs [cm]	62,4 (±18,11)	61,4 (±16,8)	0,68 (±0,2)	0,67 (±0,2)	n.s. ($p = 0,89$)
Durchmesser- zuwachs [mm]	10,13 (±1,93)	7,45 (±1,87)	0,11 (±0,02)	0,08 (±0,02)	** ($p = 0,004$)

Die Infektion an der Stammbasis führte demnach im unmittelbaren Umfeld zu einem verminderten Dickenwachstum.

Wird Periderm geschädigt oder zerstört, muss sich dies, je nach Schadensausmaß, negativ auf das sekundäre Dickenwachstum von Gehölzen auswirken, da dieses Wachstum ausschließlich vom Bildungsgewebe des Periderms initialisiert wird. Infektionen durch *P. alni*, die, ungeachtet der vollständigen Pathogenese, in jedem Fall zur partiellen Zerstörung der Rindengewebe führen, müssen vergleichbare Symptome hervorrufen, wie sie durch eine mechanische Zerstörung der Rinde entstehen würden.

Auf der anderen Seite hatte die einfache Schädigung des Rindengewebes keine Auswirkungen auf das Höhenwachstum der Erlen-Topfpflanzen: Die Infektion führte zwar insgesamt zu einer Reduktion des Rindenquerschnitts, dies aber auch nur partiell durch die lokale Begrenzung der Infektion. Es ist davon auszugehen, dass der Rindenquerschnitt immer noch ausreichend groß war, um einen stabilen Assimilattransport zu gewährleisten und es somit zu keinen wesentlichen Einschränkungen davon abhängiger Abläufe kam. Die Infektion hatte demzufolge zwar deutliche lokale, aber keine äußerlich erkennbaren systemischen Auswirkungen.

Clemenz (2007), der Höhen- und Durchmesserzuwächse von *P. alni*-infizierten Erlen sowie Kontrollen vom Zeitpunkt der Inokulation (Frühjahr) bis zum Ende der Vegetationsperiode maß, stellte allerdings auch bezüglich der Sprosslänge signifikant verringerte Zuwächse bei den infizierten Pflanzen fest. Dem Pflanzenmaterial bei Clemenz wurden allerdings im gesamten Zeitraum keine Düngemittel zugeführt, während die Erlen-Topfpflanzen dieser Versuchsreihe während der Vegetationsperiode zwei Mal mit Nährstoffen versorgt wurden. Aufgrund einer optimalen Grundversorgung ist es denkbar, dass dem Pathogen auch ein gesteigertes Abwehrpotential entgegengesetzt werden konnte.

4.3.2 Ausbreitungsdynamik der Läsionen

Bei allen mit *P. alni* inokulierten Erlen-Topfpflanzen wurden Infektionszungen ausgebildet, während sich bei den Kontrollpflanzen, die mit pathogenfreien Agarstücken inokuliert wurden, ausschließlich Kallusgewebe als Wundreaktion bildete. Mit dem Abschluss der Untersuchungen hatten alle Kontrollbäume zumindest im Ansatz die durch die Inokulation entstandene Verletzung überwallt.

Die Infektionszungen erreichten, inklusiv des Ausstanzungsbereichs durch den Korkbohrer, eine mittlere vertikale Ausdehnung von 16 mm (± 6 mm SD) und eine

axiale Ausbreitung von 12 mm (± 5 mm SD). Bei einem Teil der Topferlen waren die Infektionsbereiche sehr deutlich vom gesunden Gewebe abgetrennt, während bei anderen unterschiedliche Dimensionen von geschädigtem Gewebe zu erkennen waren. Im Fall dieser Messungen wurde nur das deutlich erkennbar betroffene Gewebe zur Infektionszunge dazugezählt, um zu eindeutigen und vergleichbaren Ergebnissen zu gelangen.

Santini et al. (2003), die bei Stamminokulationstests unter anderem auch Schwarzerlen mit *P. alni* infizierten, erreichten wesentlich größere vertikale Läsionsausprägungen von durchschnittlich 31 mm. Allerdings verwendeten sie 1-jährige Pflanzen, die deutlich kleinere Stammdurchmesser besessen haben müssen und entsprechend einen bereits vom Zeitpunkt der Inokulation an verhältnismäßig größeren zerstörten Rindenquerschnitt hatten. Bei Jüptner (2006), der Erlen vergleichbaren Alters (2- bis 3-jährig) beimpfte, wurde mit 8 mm hingegen eine wesentlich kleinere vertikale Gesamtausbreitung angegeben.

Aus den Messungen, die ab der Inokulation bis zur letzten Vermessung der Infektionsbereiche (einer Zeitspanne von 98 Tagen) durchgeführt wurden, wurde ein durchschnittlicher Längenzuwachs der Zungen von 0,12 mm pro Tag ($\pm 0,06$ mm SD) sowie ein durchschnittlicher Breitenzuwachs von 0,09 mm pro Tag ($\pm 0,06$ mm SD) berechnet. Die Standardabweichungen weisen auf eine hohe Heterogenität hin und verlangen eine differenzierte Betrachtung der Ausbreitungsdynamik verschiedener Infektionszungen. Auch von Jüptner (2006) kam der Hinweis auf die starke Variation innerhalb der Infektionsausbreitungen.

In Abb. 29 a – f kommt die divergente Entwicklung der Infektionen deutlich zum Vorschein: Aus der zeitlich gestaffelten Darstellung der Läsionszuwächse wird ersichtlich, dass kein Zusammenhang zwischen bestimmten Zeitspannen und Zuwachsraten bestand. Bei den sechs Erlen kam es in den unterschiedlichsten Zeitspannen zu den verschiedensten Entwicklungsschüben bezüglich der Infektionsausdehnung. Allen gemeinsam (a bis f) war lediglich eine ausgeprägte Entwicklung zwischen dem Zeitpunkt der Infektion und dem ersten Messtermin.

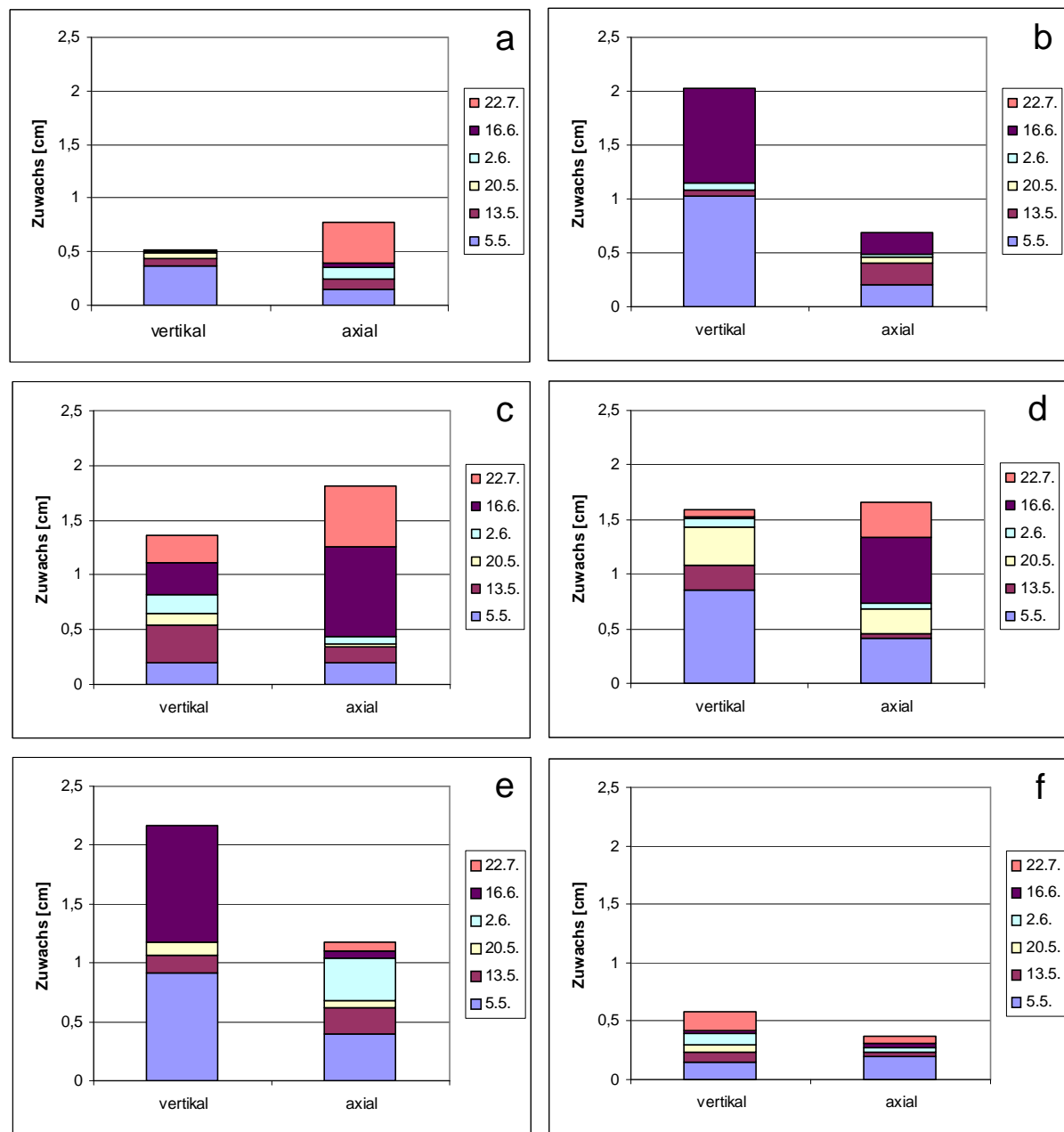


Abb. 29: Vergleich der vertikalen und axialen Entwicklungsdynamik von Infektionszungen sechs ausgewählter Erlen-Topfpflanzen (a bis f), dargestellt anhand der Zuwächse in cm, die zu 6 aufeinander folgenden Terminen gemessen wurden (gemessen wurde vom jeweils äußeren Rand der Inokulationsstelle bis zum Ende der Läsion in axialer und vertikaler Richtung)

Zwischen dem Zeitpunkt der Inokulation und der ersten Messung lagen 21 Tage, was die größte Zeitspanne darstellte und daher einen stärkeren Zuwachs als in den anderen Zeiträumen prinzipiell möglich machte. Da aber die Infektionsbereiche bereits 14 Tage nach der Inokulation zu Messungszwecken begutachtet wurden und

zu diesem Zeitpunkt noch keine optischen Veränderungen erkennbar waren, muss deren Ausbreitung daher innerhalb der dritten Woche nach der Inokulation sprunghaft stattgefunden haben.

In diesem Zeitraum kam es zu einer mittleren vertikalen Ausprägung von 0,57 cm (\pm 0,31 cm SD) und von 0,24 cm (\pm 0,11 cm SD) in axialer Richtung. Damit setzte sich der erste Entwicklungsschub der Infektionszungen sowohl in vertikaler als auch in axialer Ausrichtung quantitativ zu den Folgezuwächsen ab. Der im Durchschnitt nächst größere Entwicklungssprung, der sechs Wochen später in beiden Orientierungen festgestellt werden konnte, lag mit 0,28 cm (\pm 0,38 cm SD) und 0,19 cm (\pm 0,29 cm SD) zwar hinter der ersten Ausdehnung des Pathogens im Gewebe, der Unterschied war allerdings in beiden Ausrichtungen nicht signifikant. Auch zu den darauf folgenden Zuwächsen konnten keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden, was auf die große Heterogenität der einzelnen Zuwachsraten zurückzuführen ist.

Weiterhin geht aus den Graphiken hervor, dass keine allgemeingültige Tendenz zu hauptsächlich stammaufwärts gerichteter Ausbreitung des Pathogens bestand. Während sich die Hälfte der dargestellten Infektionsbereiche (b, e, f) stärker in Richtung der Kronen ausbreitete, tendierten zwei von ihnen eher zur axialen Ausbreitung und damit zur Gürtelung des jeweiligen Stammes (a, c); eine Läsion breitete sich gleichmäßig vertikal und axial aus (d).

Die heterogene Entwicklung wird auch anhand der unterschiedlich großen Gesamtzuwächse sichtbar. Stammaufwärts lag die Spanne der Zuwächse zwischen 0,52 und 2,17 cm, axial gab es maximale Unterschiede zwischen 0,27 und 1,81 cm.

Da das verwendete Pflanzenmaterial aus Saatgut angezogen wurde, das von verschiedenen Mutterpflanzen stammte, handelte es sich bei den Versuchspflanzen um Individuen. Anders als bei Versuchen mit genetisch identischem Material können Abwehrmechanismen und Resistenzen in unterschiedlichen Ausprägungen vorliegen. Entsprechend unterschiedlich fielen die Reaktionen auf die Beimpfung mit *P. alni* aus. Schumacher et al. (2005) kamen zu ebenso heterogenen Ergebnissen bezüglich Nekroseflächenmessungen an 3-jährigen Pflanzen von *Alnus glutinosa*. Neben der Heterogenität der Pflanzen als Grund für unterschiedliche Infektionsausprägungen schlossen sie außerdem eine variierende Aggressivität des Erregers auch bei genetisch gleichen Impfstämmen nicht aus.

Im Untersuchungszeitraum waren an drei Bäumen des Kollektivs Temperatursensoren angelegt, die die Temperatur auf der Oberfläche der Borke registrierten. Da sich die Infektionsbereiche aber so unterschiedlich entwickelten und keine gemeinsame Entwicklungstendenz erkennen ließen, wurde von einer Korrelation der Läsionszunahmen mit den gemessenen Temperaturen in den unterschiedlichen Zeiträumen abgesehen, da in diesem Fall offensichtlich keine Verbindung bestand bzw. eine mögliche Kausalität durch die Individualität der Bäume überdeckt wurde.

4.3.3 Chlorophyllfluoreszenzanalytische Untersuchungen im nahen Infektionsbereich

Bei den jungen Erlenpflanzen wurde in 2- bis 4-wöchentlichen Abständen die Absorption im nahen Umfeld des Inokulationsbereichs über die Fläche mittels bildgebender Verfahren (vgl. 3.5.1, Imaging PAM) gemessen sowie die maximalen Quantenausbeuten (F_v/F_m) in festgelegten Abständen punktuell ermittelt.

Die Ergebnisse der gemittelten maximalen Quantenausbeuten an infizierten Pflanzen sind in Abb. 30 über einen Zeitraum von drei Monaten (Mai bis Juli) dargestellt, die der Kontrollen zum Vergleich in Abb. 31. Parallel zu den maximalen Quantenausbeuten der infizierten Erlen ist die prozentuale Abnahme von F_v/F_m über diesen Zeitraum in Abb. 32 angeführt.

Die Daten zur Messung im Mai wurden 21 Tage nach der Inokulation erhoben. Wie in 4.3.2 bereits erläutert, war dies der erste Termin, an dem eine erste sichtbare Entwicklung an den Infektionsbereichen festgestellt werden konnte.

Abb. 30 (Mai) zeigt, dass die maximalen Quantenausbeuten des Rindengewebes nur in unmittelbarer Umgebung der Inokulationsstelle vermindert waren. Während sich F_v/F_m im weiteren Umfeld (-1 cm bis +1 cm) bei etwa 0,7 bis maximal 0,8 ansiedelte, waren die Quantenausbeuten in direkter Nähe signifikant niedriger ($p = 0,013$) und betrugen nur noch zwischen 0,4 (bei +0,5 cm) und 0,6 (bei -0,5 cm). Im Inokulationszentrum, in dem die Rinde durch die Agarabschnitte ersetzt wurde, lagen die F_v/F_m -Werte folglich aufgrund des fehlenden Bastgewebes insgesamt bei Null.

F_v/F_m -Werte zwischen 0,7 und 0,8 als Maximalraten wurden auch an Stämmen von jungen Sauerkirschen (*Prunus cerasus*) in Sommermonaten gemessen, wobei auch in deren Fall 0,8 nie überschritten wurde (Levizou und Manetas 2008).

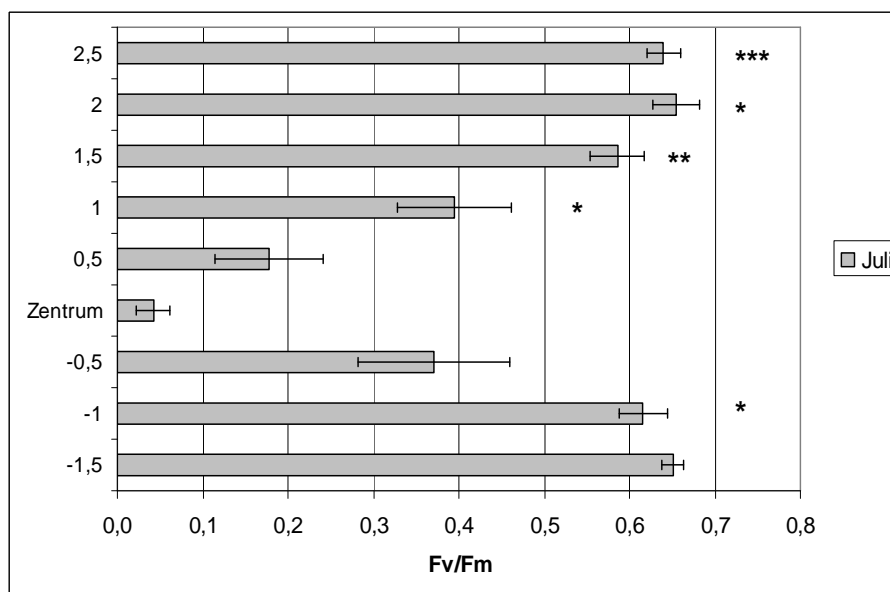
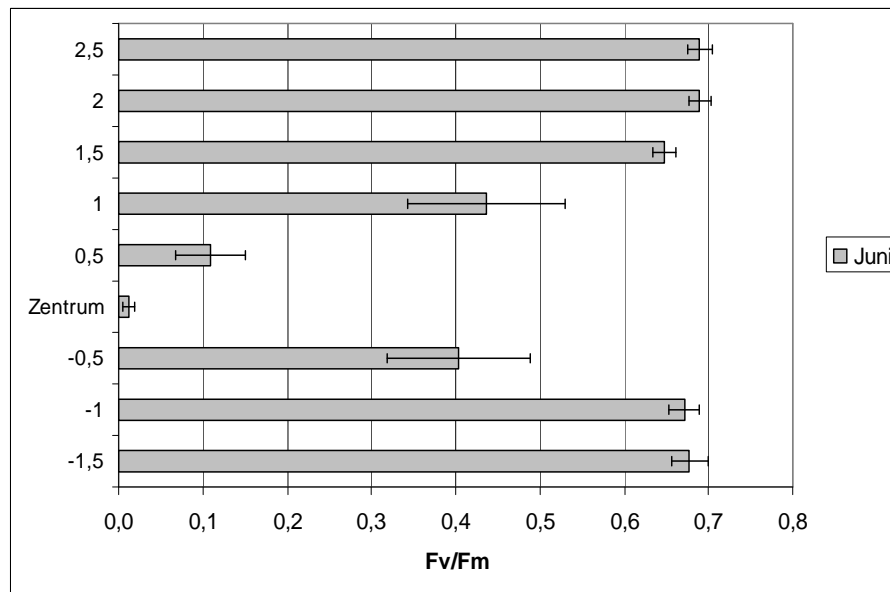
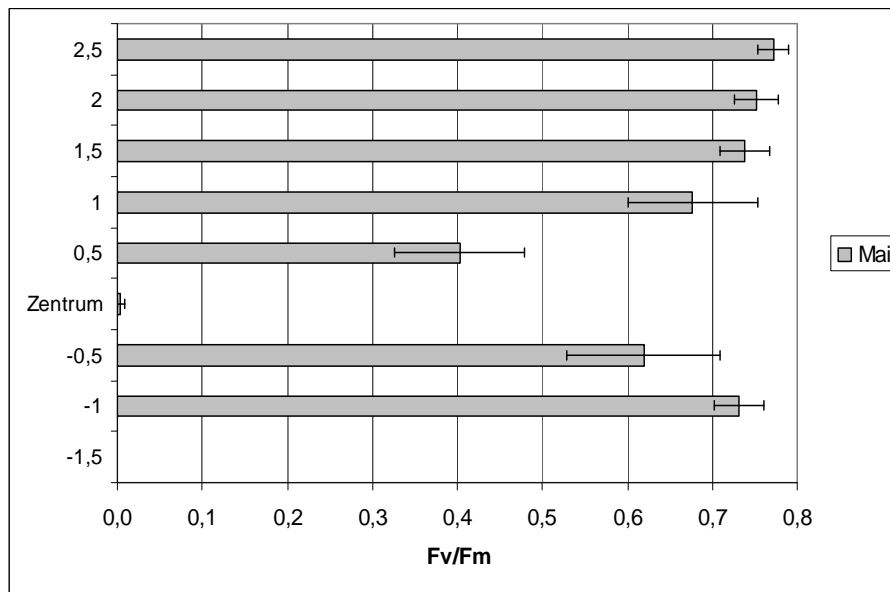


Abb. 30: (siehe vorige Seite) Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (Fv/Fm) im nahen Umfeld von *P. alni*-Infektionen an 2,5-jährigen Erlen (n = 10); gemessen wurde unterhalb und oberhalb des Inokulationsbereiches (Zentrum) in 0,5 cm - Abständen über einen Zeitraum von 3 Monaten; dargestellt sind MW und SE sowie signifikante Unterschiede zwischen den zu Beginn (Mai) und den am Ende (Juli) erhobenen Fv/Fm - Werten

Im Folgemonat Juni hatten sich die Fv/Fm-Werte im Durchschnitt an fast allen Messpunkten verringert.

Dazu ist anzumerken, dass eine generelle Verringerung von Fv/Fm zwischen Anfang Mai und Ende Juli auch bei den entsprechenden Messungen an den Kontrollerlen zu verzeichnen war, die zum Teil auch signifikant waren (vgl. Abb. 31).

Ein wesentlicher Unterschied bestand aber darin, dass die maximalen Quantenausbeuten der Kontrollen im Gegensatz zu denen der inokulierten Bäume dennoch insgesamt höher waren: So sank beispielsweise Fv/Fm oberhalb der Inokulationsstelle (+ 0,5 cm) von 0,72 im Mai auf 0,67 im Juli ($p = 0,014$), was in keinem Verhältnis zu den absoluten Werten bei den *P. alni*-inokulierten Erlen steht, die deutlich niedriger ausfielen. Eine Reduktion der Werte unabhängig von *P. alni* kann durch Photoinhibition erklärt werden.

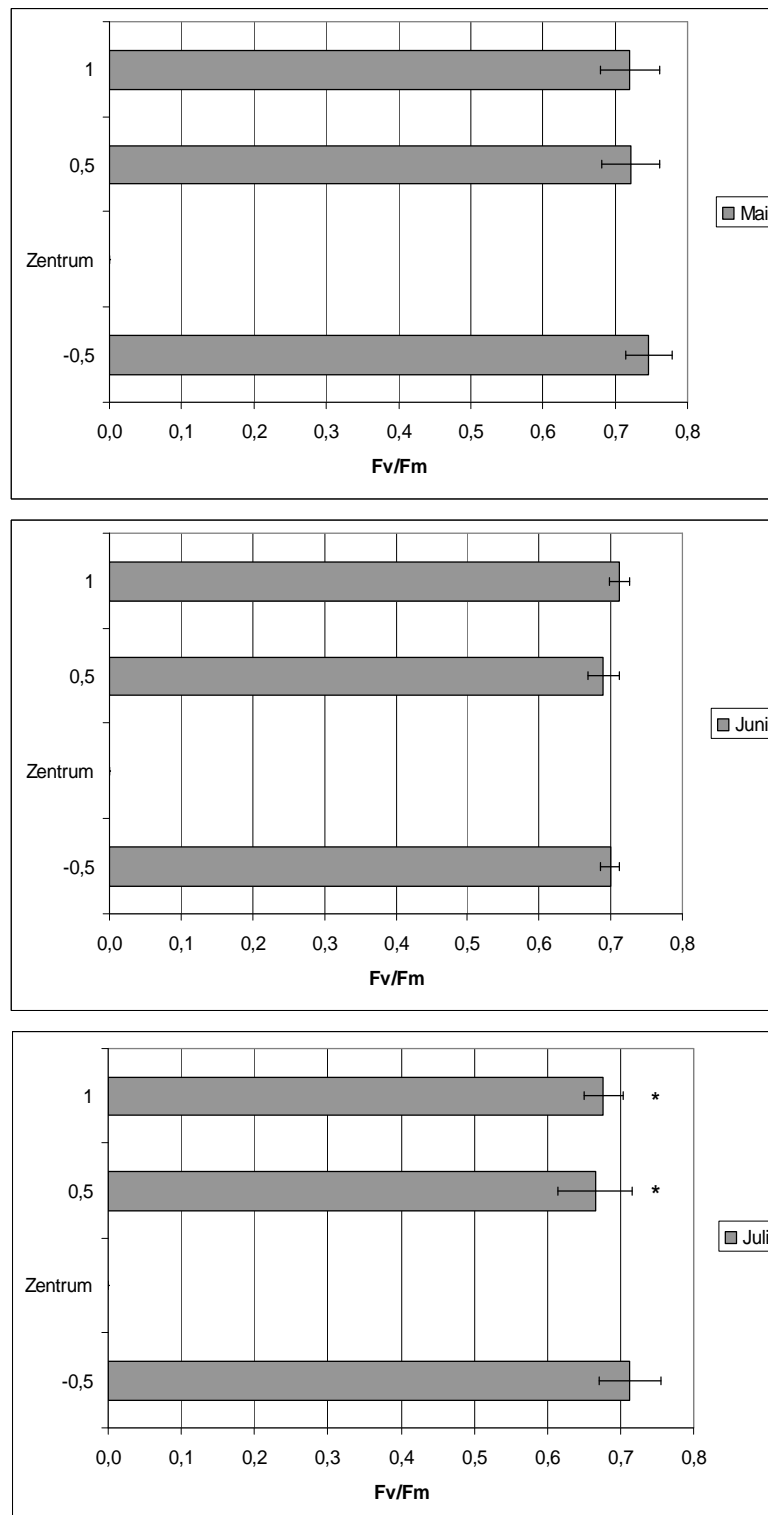


Abb. 31: Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (FV/Fm) im nahen Umfeld einer Inokulation mit Kontrollagar an 2,5-jährigen Erlen ($n = 10$); gemessen wurde unterhalb und oberhalb des Inokulationsbereiches (Zentrum) in 0,5 cm - Abständen über einen Zeitraum von 3 Monaten; dargestellt sind MW und SE sowie signifikante Unterschiede zwischen den zu Beginn (Mai) und den am Ende (Juli) erhobenen Fv/Fm - Werten

Solhaug und Haugen (1998) zeigten an *Populus tremula* eine Abhängigkeit von Fv/Fm sowohl von der Temperatur als auch von der Lichtintensität. Vergleichbares wurde an Stämmen von *Prunus cerasus* festgestellt (Levizou und Manetas 2008). Eine Depression der Werte stellte sich vor allem im Winter auf den sonnenexponierten Seiten der Stämme ein. Als Grund wurde bei Solhaug und Haugen (1998) die zu diesem Zeitpunkt fehlende Beschattung durch Blätter genannt und die damit verbundene Photoinhibition, was, neben einem niedrigen Chlorophyll a/b-Verhältnis in Stammgeweben, den Schluss auf Schattenadaption der Rindenphotosynthese zuließ. Nach Jüptner (2006) wiesen gesunde 3-jährige Schwarzerlen an der Stammbasis Chlorophyll a / b-Verhältnisse von 2,47 auf. Dieser Wert bestätigt die Schattenadaption von Rindengeweben der Schwarzerle.

Da die inokulierten Versuchsbäume in dem Sinne sonnenexponiert standen, als dass sie keine Beschattung durch adulte Bäume oder durch eine besonders ausgeprägte Bestandsdichte hatten, kann die intensivere Sonneneinstrahlung in den Monaten Juni und Juli durchaus eine photoinhibitorische Wirkung auf das Photosystem II gehabt haben, die sich in der Reduktion von Fv/Fm äußerte.

Tausz et al. (2005) hingegen stellten nach ihren Untersuchungen an *Eucalyptus nitens* die Hypothese auf, dass Photoinhibition in Stammchlorenchymen keine große Rolle spielt, sondern dass Rindengewebe im Endeffekt regulär photoinhibierende Bedingungen erleben und dass diese zu einer kleinen, aber dauerhaften Reduktion in der Effizienz der Photochemie führen können. Es kann sich daher auch an eine generelle Anpassung der Gewebe an tendenziell (zu) hohe Lichtintensitäten handeln.

Abgesehen von der beschriebenen möglichen lichtbedingten Verringerung von Fv/Fm gab es im Juni deutliche Einbußen im nahen Umfeld der Inokulation (Abb. 30), die sich nicht strahlungsbedingt erklären lassen, sondern auf den Einfluss von *P. alni* zurückzuführen sind:

Massive Veränderungen gegenüber dem Vormonat zeigten sich bei den Fv/Fm-Werten an den Messpunkten in nächster Nähe zur Inokulationsstelle (bei -0,5, +0,5 und +1 cm). Alle Werte waren im Vergleich mit den Ergebnissen von Mai erniedrigt; Fv/Fm sank an diesen Punkten um mindestens 0,2. Das umliegende Gewebe, welches im Mai bereits durch *P. alni* angegriffen gewesen sein muss, wie die zu dem Zeitpunkt bereits herabgesetzten Werte zeigten, war einen Monat später bereits deutlich stärker geschädigt.

Noch immer steht zur Diskussion, welche Ernährungsform *P. alni* verfolgt. Der Gattung *Phytophthora* wird von Prell (1996) die Möglichkeit zu fakultativer Biotrophie eingeräumt, einem Wechsel von Biotrophie zu Perithotrophie in Abhängigkeit vom Lebenszyklus. Verfolgt *P. alni* jene Ernährungsform, könnte dies im Bezug auf die Stamminfektion bedeuten, dass sich der Erreger im Stadium der Kolonisierung zunächst noch der Stoffwechselprodukte der lebenden Pflanzenzellen bediente und im Anschluss an die Besiedelung die Zellen abtötete. Dies würde die qualitativen Unterschiede in den maximalen Quantenausbeuten in den beiden Monaten erklären: eine Herabsetzung der maximalen Quantenausbeuten im Mai durch Kolonisierung der umliegenden Gewebe und eine weitere deutlichere Verminderung im Juli durch Nekrotisierung des zuvor besiedelten Gewebes. Zu diesem Zeitpunkt wurden bereits weitere Abschnitte des anschließenden lebenden Gewebes besiedelt, wie die Erweiterung des Radius' verminderter Fv/Fm-Werte zeigt.

Insgesamt war eher eine Orientierung des Pathogens in Richtung Sprossspitze erkennbar, da die Fv/Fm-Werte oberhalb der Inokulationsstelle stärker dezimiert waren als unterhalb. Anders als beim Vergleich von vertikaler und axialer Läsionsausdehnung (vgl. 4.3.2), bei dem keine Präferenz bezüglich der Wachstumsrichtung des Pathogens festgestellt werden konnte, gab es demnach innerhalb der vertikalen Ausrichtung eine bevorzugte Orientierung.

Im Zentrum war im Juni zum Teil wieder Chlorophyllfluoreszenz messbar.

Im Juli hatten sich die Werte insgesamt im Vergleich zum Vormonat weiterhin leicht reduziert. Im Zentrum und im darüberliegenden Anschlussgewebe (+0,5 cm) waren die maximalen Quantenausbeuten allerdings im Durchschnitt wieder angestiegen. Im Zentrum konnte 0,04 statt 0,004 (im Mai) und 0,01 (im Juni) gemessen werden, darüber (bei +0,5 cm) hatte sich der Wert von 0,11 des Vormonats wieder auf 0,18 erhöht.

Die Zunahme der Werte im Zentrum und in der Umgebung können meines Erachtens als Regeneration des Gewebes betrachtet werden. Im Zuge von Kallusbildung, die entweder von den Seiten einsetzte oder von Zellen ausging, die bei der Entfernung der chlorophyllhaltigen Gewebe nicht miterfasst wurden, konnte sich im Inokulationszentrum wieder Chlorenchym entwickeln.

Da sich fakultativ biotrophe Organismen in lebenden Geweben aufhalten, ist anzunehmen, dass sich *P. alni* im Grenzgebiet zwischen absterbendem und lebendem Gewebe befand und nicht mehr aktiv am Infektionsursprung. Auch im Umfeld der Inokulationsstelle waren, nach dem Wiederanstieg der Fv/Fm-Werte zu urteilen, noch genügend lebende Zellen vorhanden, die die Regeneration des Rindengewebes möglich machten.

Hinzu kommt, dass es sich bei den infizierten Erlen um gesunde und ausreichend mit Nährstoffen versorgte Jungpflanzen ohne offensichtliche Prädispositionen handelte. Es ist daher denkbar, dass einige der infizierten Pflanzen durchaus das Potential hatten, durch den Einsatz postinfektioneller Mechanismen die Infektion und den Erreger zu überwinden.

In Abb. 30 (Juli) sind schließlich die signifikanten Unterschiede bezüglich der Quantenausbeuten zwischen dem Beginn der Messungen im Mai und der letzten Messung im Juli dargestellt. Das Ergebnis zeigt die Tendenz des Pathogens, sich in Richtung der Sprossspitze „fortzubewegen“: Oberhalb des Inokulationspunktes waren im Juli alle Fv/Fm-Werte signifikant bis höchst signifikant niedriger als noch im Mai, während unterhalb des Inokulationsplugs nur bei -1 cm eine signifikante Verminderung festgestellt werden konnte. Die Gewebe unterhalb der Infektion waren folglich deutlich weniger vom Pathogen beeinflusst.

Die Darstellung der prozentualen Veränderung von Fv/Fm stützt ebenfalls diese Annahme (Abb. 32):

Während stammabwärts (-1 cm) die Rate nur noch auf 84,3 % im Bezug zum Ausgangswert reduziert war (diese Reduktion wurde bereits durch die Möglichkeit eintretender Photoinhibition durch mangelnde Beschattung erklärt), war im Gegensatz dazu stammaufwärts (+1 cm) die Quantenausbeute im Juli bis auf 58,3 % reduziert. Erst bei +1,5 cm näherte sich der Wert mit 79,4 % langsam einem Niveau an, dass ohne *P. alni*-Einfluss erwartet würde. Entsprechend war der Einfluss von *P. alni* stammaufwärts größer.

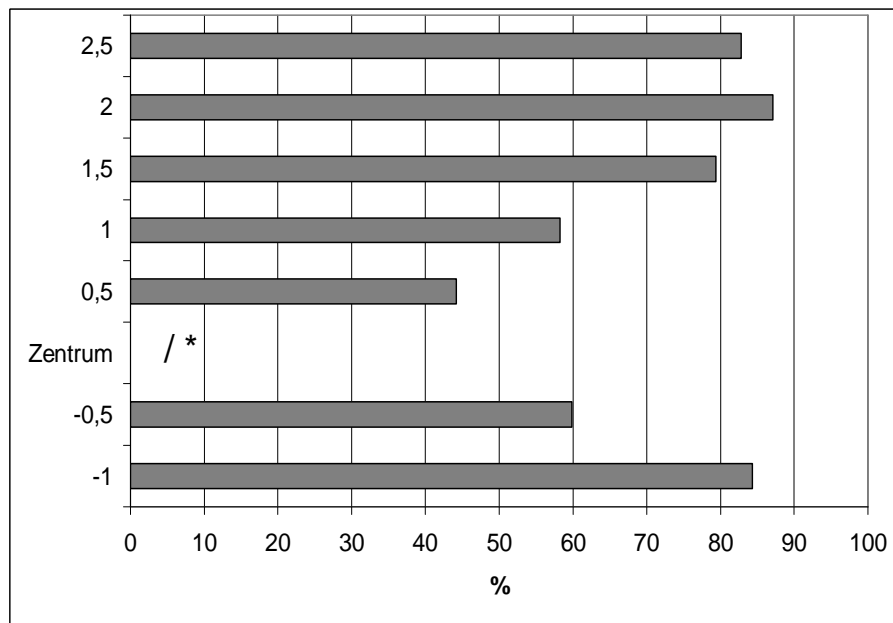


Abb. 32: Prozentuale Darstellung der Veränderung maximaler Quantenausbeuten (F_v/F_m) entlang von Infektionszungen ($n = 10$) in einem Zeitraum von 3 Monaten; dargestellt sind entsprechend die Quantenausbeuten in % nach Ablauf der 3 Monate mit der Bezugsgröße der Erstmessungen im Mai (= 100%); (/ *): die Veränderung im Zentrum wurde aufgrund irreführender Werte nicht dargestellt)

Obwohl deutlich erkennbar ist, dass die photosynthetische Aktivität des Rindengewebes durch einen *P. alni*-Befall im negativen Sinne beeinflusst wird, zeigten sich die inokulierten Erlen in ihrer Reaktion auf das Pathogen sehr variabel bzw. konnte *P. alni* sich in unterschiedlichem Maße etablieren.

Im Folgenden (Abb. 34 bis 36) werden daher separat Photosyntheseparameter dreier Jungpflanzen vorgestellt, um die Reaktionsvariabilität von Individuen zu verdeutlichen.

Zum Vergleich sind vorab dieselben Parameter an einem der Kontrollbäume dargestellt, die mit *P. alni*-freien Agarplugs beimpft wurden (Abb. 33).

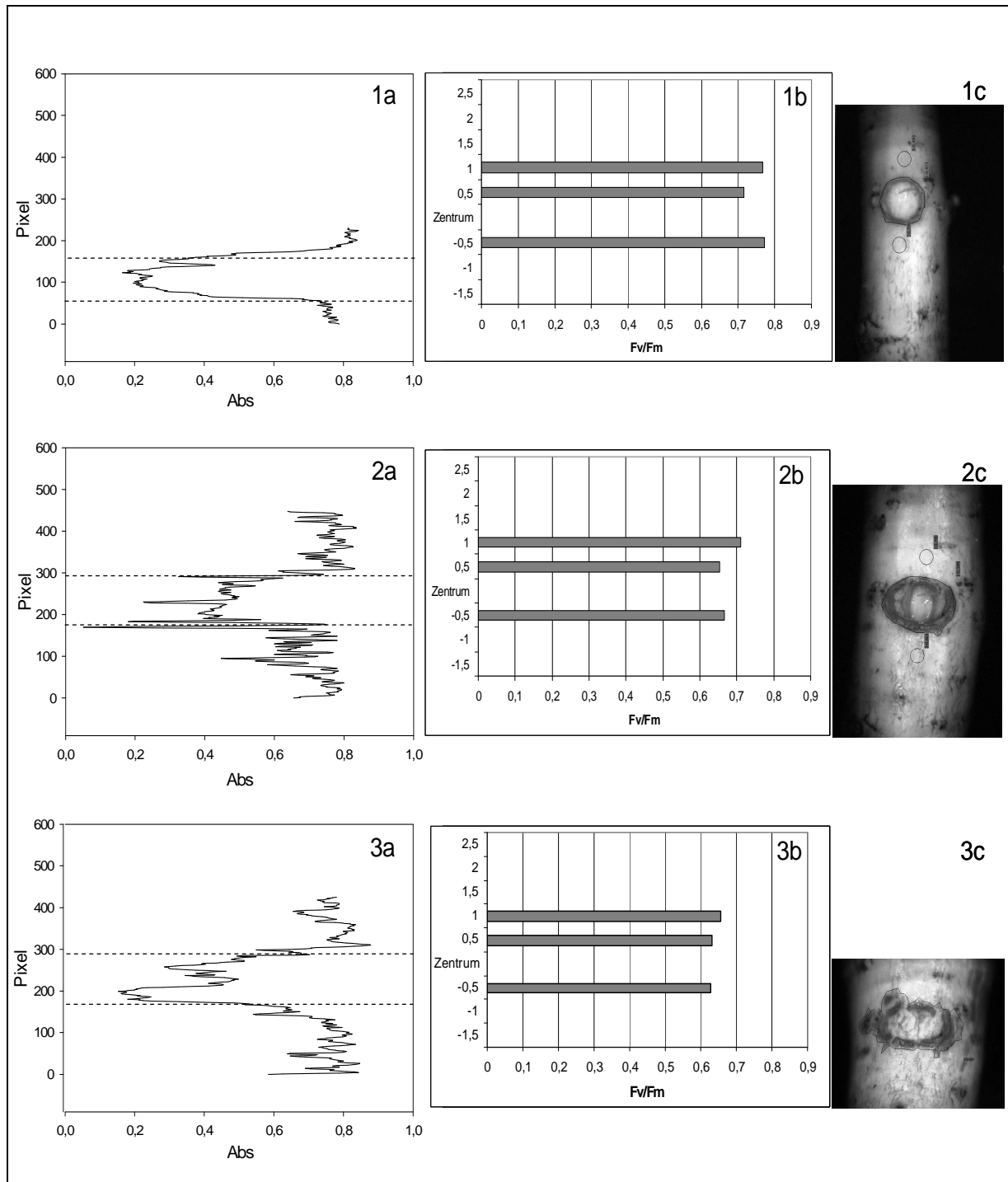


Abb. 33: Vergleich der Absorptionsentwicklung (1a – 3a) mit der Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (Fv/Fm) im nahen Umfeld einer Inokulation mit Kontrollagarplugs (1b – 3b) und der entsprechenden Nahinfrarotaufnahme (1c – 3c) einer Kontrollierle über einen Zeitraum von 3 Monaten (1 – 3); die gestrichelte Markierung in 1a – 3a grenzt den Inokulationsbereich ein

Die maximalen Quantenausbeuten wurden bei den Kontrollen im Inokulationsbereich sowie an drei weiteren Messpunkten (-0,5 cm, +0,5 cm und +1 cm) ermittelt. Außer im Zentrum, aus dem das Rindengewebe entfernt war, ergaben sich bei den oberhalb und unterhalb gemessenen Quantenausbeuten keine wesentlichen Einbußen, da die Gewebe im Umfeld nicht geschädigt wurden, wie auch optisch an den Infrarot-Aufnahmen (NIR) zu erkennen ist. Um den Inokulationsbereich herum wurde lediglich als Folge der mechanischen Verletzung eine ringförmige Nekrose entwickelt. Im Laufe von drei Monaten wurde die Wunde komplett von Kallusgewebe verschlossen.

Bei den Absorptionsmessungen ergaben sich über den Untersuchungszeitraum keine Veränderungen: Im Inokulationsbereich war die Absorption aufgrund fehlender Chlorophylle dauerhaft reduziert, während die Absorptionsfähigkeit jenseits der Ausstanzung zu jeder Zeit sprunghaft anstieg und bei 0,8 angesiedelt war.

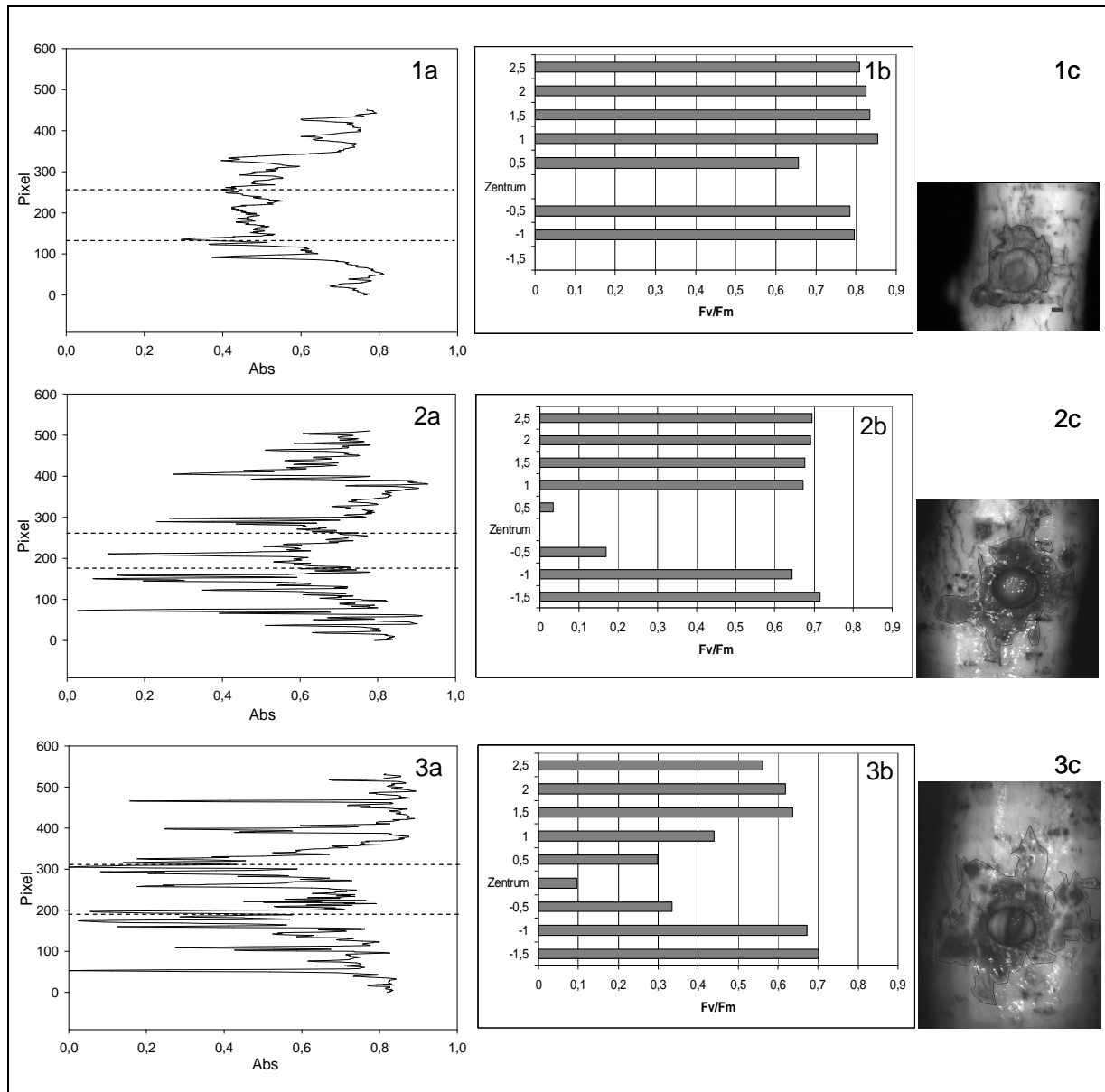


Abb. 34: Vergleich der Absorptionsentwicklung (1a – 3a) mit der Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (FV/Fm) im nahen Umfeld einer *P. alni*-Infektion (1b – 3b) und der entsprechenden Nahinfrarotaufnahme (1c – 3c) eines Einzelbaumes (Beispiel A) über einen Zeitraum von drei Monaten (1 – 3); die gestrichelte Markierung in 1a – 3a grenzt den Inokulationsbereich ein

Bei der ersten infizierten Jungpflanze, Beispiel A (Abb. 34), zeigten sich folgende Reaktionen:

Die maximalen Quantenausbeuten der umliegenden Messpunkte waren im Mai noch alle verhältnismäßig hoch um 0,8 herum angesiedelt, lediglich im Inokulationszentrum und 0,5 cm darüber war keine Quantenausbeute messbar bzw. war diese auf 0,66 reduziert (vgl. 1b). Die Absorptionsmessungen unterstützten diese

Ergebnisse: Insgesamt lag die Absorption im Umfeld zwischen 0,7 und 0,8 (vgl. 1a) und wird als unbeeinflusst eingeschätzt, da auch Blätter in Abhängigkeit ihres Aufbaus und ihrer Ausstattung im Durchschnitt nur zwischen 60 und 80 % des sichtbaren Lichts absorbieren (Kubin 1985). Da die Absorption in diesem Fall durch Rotlicht (650 nm) angeregt wurde, was einem der Absorptionsmaxima von Chlorophyll entspricht und somit eine optimale Anregung gewährleistet, sind die Absorptionswerte im Durchschnitt höher, als wenn man die Absorption, die man über das gesamte Spektrum des sichtbaren Lichts erfasst, mitteln und bewerten würde.

Eine Verminderung der Absorption lag nur an der Inokulationsstelle selbst und darüber vor, was für den Beginn der Zerstörung des Gewebes in Richtung der Sprossspitze spricht. Die NIR-Aufnahme spiegelt beide Ergebnisse wider: Es zeigte sich eine deutliche aufwärts orientierte Nekrose mit scharfer Abgrenzung zum gesunden Gewebe. Entsprechend sind auch sprunghafte Veränderungen der Absorption oder der Quantenausbeuten zu erklären.

Einen Monat später (Abb. 34, 2a – 2c) waren die Fv/Fm-Werte insgesamt oberhalb und unterhalb des Zentrums vermindert, am deutlichsten jedoch im 0,5 cm - Radius. Die reduzierte Fähigkeit zur photosynthetischen Nutzung des Lichtes zeigte sich ebenfalls deutlich in der Absorption. Punktuell lag die Absorption bei 0; insgesamt zeigte sich im Gegensatz zum Vormonat ein destabilisiertes Bild der Absorptionsfähigkeit ohne klare Tendenzen. Dies wird durch die NIR-Aufnahme bestätigt: Die Nekrose war nicht mehr klar abgegrenzt, sondern hatte diffuse Übergänge zum intakten Gewebe (vgl. 2c).

Im dritten Monat (Abb. 34, 3a – 3c) zeigte sich ein mit dem Vormonat vergleichbares Ergebnis mit dem Unterschied, dass zum einen Fv/Fm-Werte im Zentrum gemessen werden konnten (0,09) und zum anderen die Werte im 0,5 cm - Radius wieder auf 0,30 oberhalb und 0,34 unterhalb angestiegen waren. Im Juni lagen die entsprechenden Werte noch bei 0,03 und 0,17.

Auch die entlang der Achse gemessene Absorption veränderte sich zum Vormonat kaum, nur im Zentrum konnte ein leichter Anstieg beobachtet werden. Dieser begründet sich durch die beginnende Überwallung der Inokulationsstelle mit potentielltem Rindenparenchym (vgl. 3c).

An der Entwicklung dieser Infektionszunge ist deutlich die Ausbreitung des Erregers in Richtung intakter Gewebe zu erkennen sowie die Orientierung nach oben. Im Bereich von +2,5 cm fand immer noch eine Reduktion der photosynthetischen

Aktivität statt, während sich das Gewebe vom Infektionszentrum aus wieder regenerierte. Im Gegensatz zu der Einflussnahme auf die Rindenphysiologie in +2,5 cm Entfernung war optisch angegriffenes Gewebe in vertikaler Richtung nur bis +0,9 cm messbar (vgl. Abb. 34, 3c). *P. alni* muss sich dementsprechend bereits im vermeintlich intakten Gewebe befunden oder zumindest photosynthesehemmende Wirkung auf dieses gehabt haben.

Insgesamt war durch den Einfluss des Erregers die Photosyntheseleistung innerhalb der drei Monate stetig gesunken, wobei Photoinhibition als zusätzlicher Faktor hinzuzufügen ist.

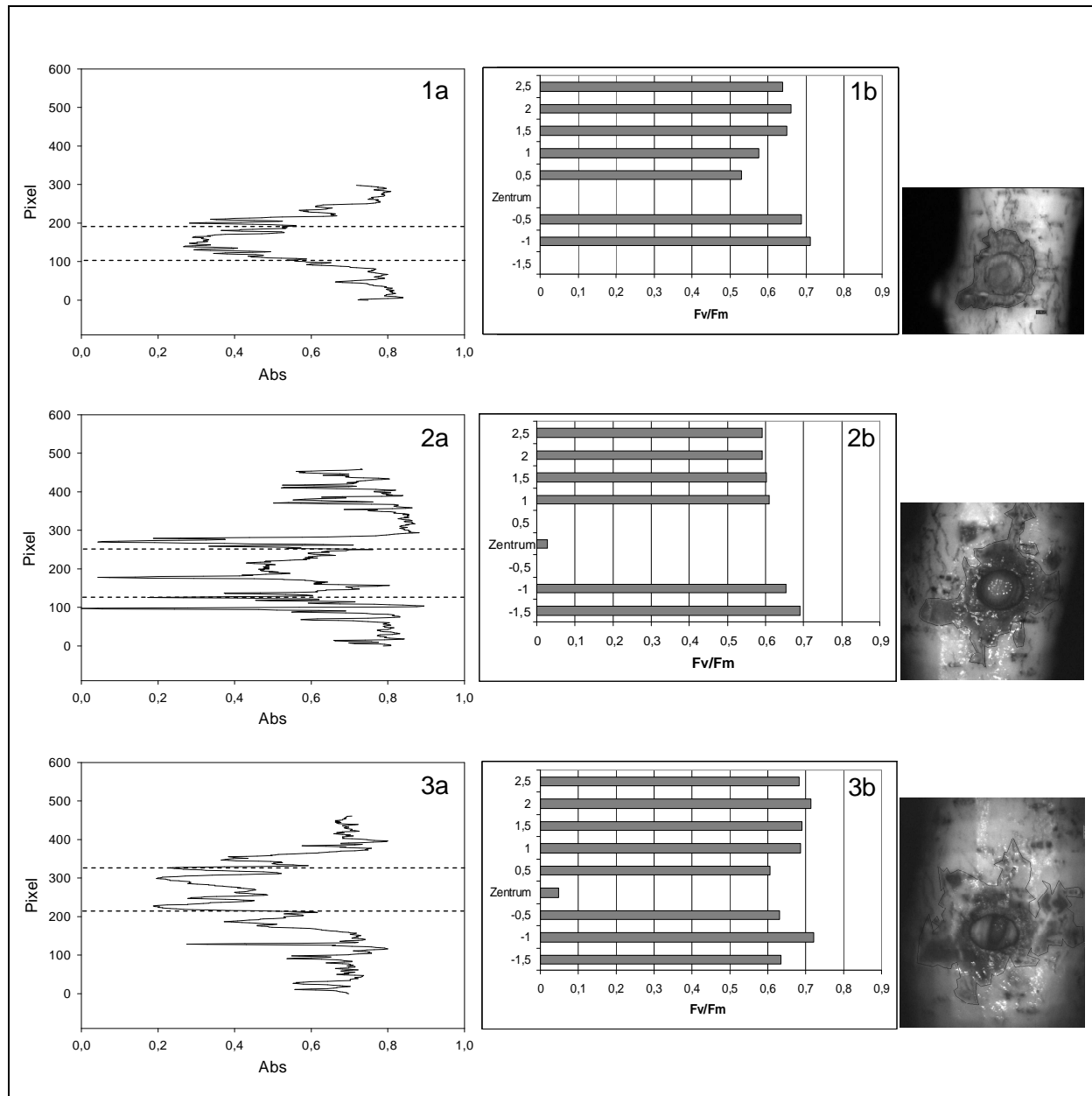


Abb. 35: Vergleich der Absorptionsentwicklung (1a – 3a) mit der Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (Fv/Fm) im nahen Umfeld einer *P. alni*-Infektion (1b – 3b) und der entsprechenden Nahinfrarotaufnahme (1c – 3c) eines Einzelbaumes (Beispiel B) über einen Zeitraum von drei Monaten (1 – 3); die gestrichelte Markierung in 1a – 3a grenzt den Inokulationsbereich ein

Die Infektion in Abb. 35, Beispiel B, prägte sich in anderer Form aus und war vielmehr ein Beispiel für die Möglichkeiten der Regeneration angegriffener Gewebe. Die im Mai (Abb. 35, 1a – 1c) gemessenen maximalen Quantenausbeuten waren hier allerdings von Anfang an verhältnismäßig niedrig und lagen im Durchschnitt bei 0,64. Die durch *P. alni* induzierte Nekrose zeigte wieder eine klare Abgrenzung.

Bereits im Folgemonat (Abb. 35, 2a – 2c) war im Zentrum wieder photosynthetische Aktivität messbar, die von einem Anstieg der Absorption begleitet wurde. Gleichzeitig konnte im 0,5 cm – Radius keine Photosynthese mehr festgestellt werden. Auch Absorption war im nahen Außenbereich der Inokulationsstelle teilweise nicht mehr messbar. Beides spricht für einen massiven Abbau der Pigmente sowie für eine Verlagerung des Pathogens von der Inokulationsstelle in die Außenbereiche. Auch hier zeigte sich eine Veränderung der Infektionszunge; das gesunde Gewebe war zum angegriffenen nicht mehr scharf abgegrenzt, sondern der Übergang erschien tendenziell diffuser.

Die letzten Messungen im Juli setzten sich bei diesem Beispiel allerdings deutlich von denen im Vormonat ab (Abb. 35, 3a – 3c): Auf der gesamten vertikalen Messachse nahmen die maximalen Quantenausbeuten durchweg zu. Im 0,5 cm - Radius, in dem zuvor keine Photosyntheseaktivität mehr messbar war, waren die Fv/Fm-Werte oberhalb der Infektion mit 0,61 sogar höher als zu Beginn der Messung im Mai. Die Absorption hatte sich von Juni nach Juli wieder in dem Sinne stabilisiert, als dass entlang der Messachse nur noch sehr vereinzelt gar keine Absorption mehr gemessen werden konnte. Trotz der Ergebnisse, die deutlich für eine Regeneration des Rindengewebes sprechen, konnte auch für den letzten Monat eine leichte Vergrößerung des angegriffenen Gewebes in Richtung des Sprosses gemessen werden. Der Unterschied zum Vormonat lag aber lediglich bei 0,16 cm und auch die NIR-Aufnahmen (2c und 3c) sprechen vielmehr für eine Regeneration des Gewebes. Das Periderm hatte im Juli die dunkle, für eine Nekrose typische Färbung teilweise schon wieder verloren.

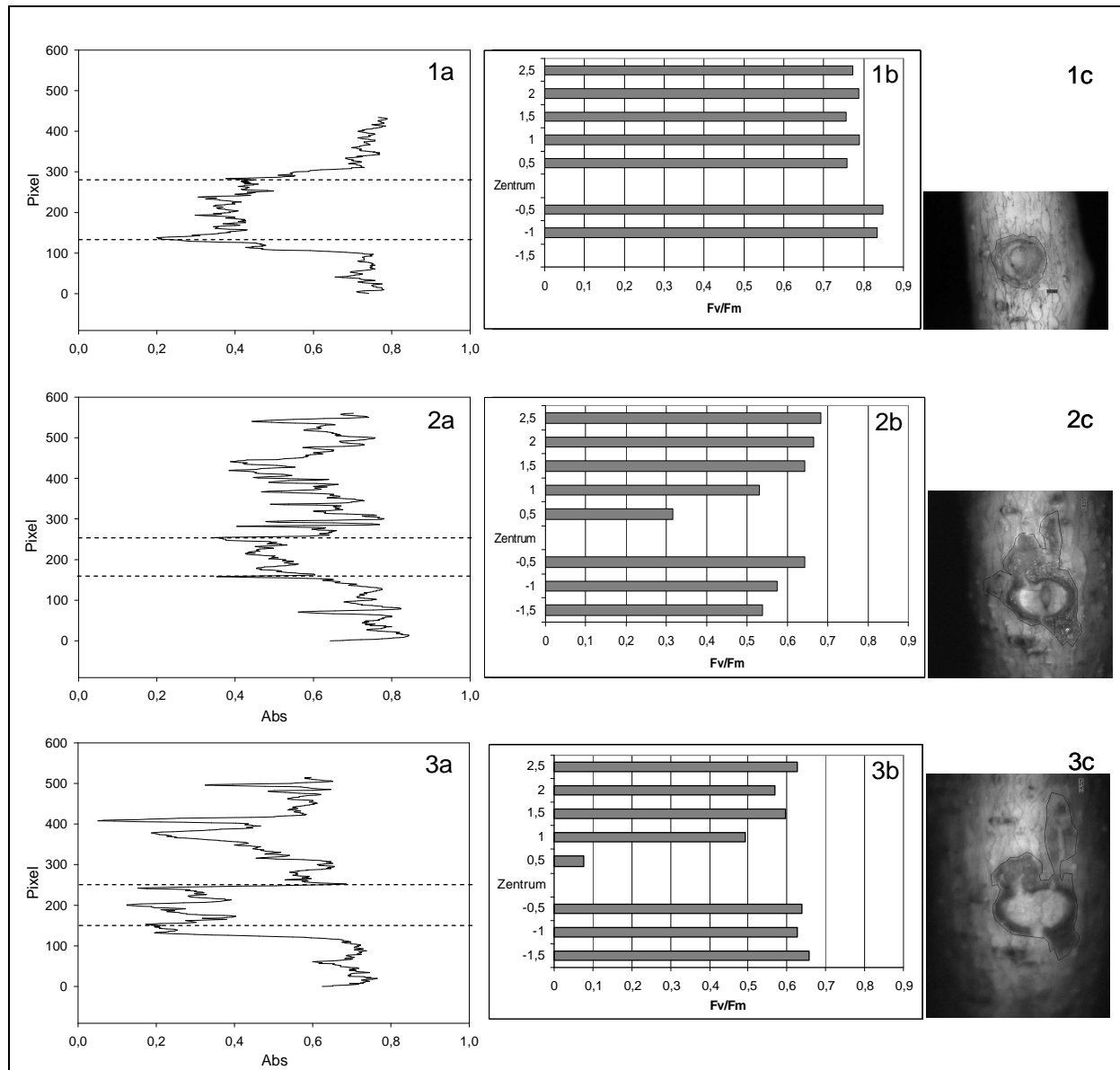


Abb. 36: Vergleich der Absorptionsentwicklung (1a – 3a) mit der Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (Fv/Fm) im nahen Umfeld einer *P. alni*-Infektion (1b – 3b) und der entsprechenden Nahinfrarotaufnahme (1c – 3c) eines Einzelbaumes (Beispiel C) über einen Zeitraum von drei Monaten (1 – 3); die gestrichelte Markierung in 1a – 3a grenzt den Inokulationsbereich ein

Im letzten Beispiel C (Abb. 36) zeigte sich der schädigende Einfluss von *P. alni* am deutlichsten. Dort nahmen im Laufe der drei Monate sowohl die Absorption in ihrer Gesamtheit als auch die maximalen Quantenausbeuten stetig ab. Die Reduzierung beider Größen muss zum einen durch einen erheblichen Chlorophyllverlust in den Lichtsammelkomplexen im Zuge der Rindenzerstörung durch *P. alni* bedingt sein, wie auch Jüptner (2006) punktuell an stamminokulierten Erlen durch die Gegenüberstellung von Chlorophyllgehalten und Absorptionskoeffizienten zeigte;

aber auch direkte Auswirkungen auf die Photosysteme, in diesem Fall auf das PS II, sind nicht auszuschließen. Die Möglichkeit von durch *P. alni* gebildeten Toxinen, die sich hemmend auf photosynthetische Funktionen auswirken, wird im Zusammenhang mit den Schädigungen an *Alnus glutinosa*, sowie anderen durch *Phytophthora* betroffenen Gehölzen, diskutiert (Milat et al. 1991, Heiser et al. 1999, Brummer et al. 2002, Oßwald 2004, Fleischmann 2005).

Im Inokulationszentrum kam es schließlich, anders als bei den vorigen Beispielen, nicht mehr zur Regeneration des photosynthetisch aktiven Gewebes und einer entsprechenden photosynthetischen Aktivität, obwohl schon im Juni der Inokulationsbereich zu etwa $\frac{2}{3}$ von Kallusgewebe überwallt war; im Juli war die Wunde schließlich vollständig geschlossen. Die optisch erkennbare Fläche nekrotischen Gewebes hatte sich allerdings nur von Mai bis Juni deutlich ausgebreitet; die vertikale Zunahme lag in diesem Monat bei 1,15 cm; im letzten Monat wurde kein zusätzliches abgestorbenes Gewebe registriert.

4.3.4 Gaswechsellmessungen an der Stammbasis

Parallel zu den Chlorophyllfluoreszenzanalysen im Infektionsbereich wurde der Gaswechsel in den entsprechenden Stammabschnitten gemessen.

Abb. 37 zeigt die ermittelte Dunkelatmung (R_d) an der Stammbasis der Kontrollen und der inokulierten Erlen im Zeitraum zwischen Mai und September. Mit Ausnahme der Anfang Juni durchgeführten Messung lagen die Atmungsraten der Kontrollen immer über denen der inokulierten. Zu den Messterminen Anfang und Mitte Mai war die Atmung der Kontrollen sogar höchst signifikant ($p = 0,0003$ und $p = 0,0007$), Mitte Juni zumindest signifikant höher ($p = 0,02$).

In beiden Gruppen ist bezüglich der Atmungsaktivität ein klares Muster erkennbar: Zu Beginn der Messperiode, was jahreszeitlich tendenziell dem Beginn der Vegetationsperiode zuzuordnen ist, waren die Atmungsraten in beiden Gruppen mit $-5,6$ (Kontrollen) und $-2,8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (infizierte Erlen) noch relativ niedrig. Bis Mitte Juni wurde die Atmung kontinuierlich bei den Kontrollen bis auf $-10,5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ erhöht, bei den infizierten Erlen konnte man entsprechendes bis Anfang Juni beobachten, wobei hier eine durchschnittliche Rate von $-9,1 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ erreicht wurde. Anschließend sank die Atmung in beiden Gruppen wieder kontinuierlich ab. Die Atmungsraten fielen zur letzten Messung im August aber noch

nicht auf den niedrigen Stand von Mai. Dies ist im Zusammenhang mit der noch nicht abgeschlossenen Vegetationsperiode zu betrachten. Zu diesem Zeitpunkt lagen die Raten bei $-7,1$ und $-5,8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

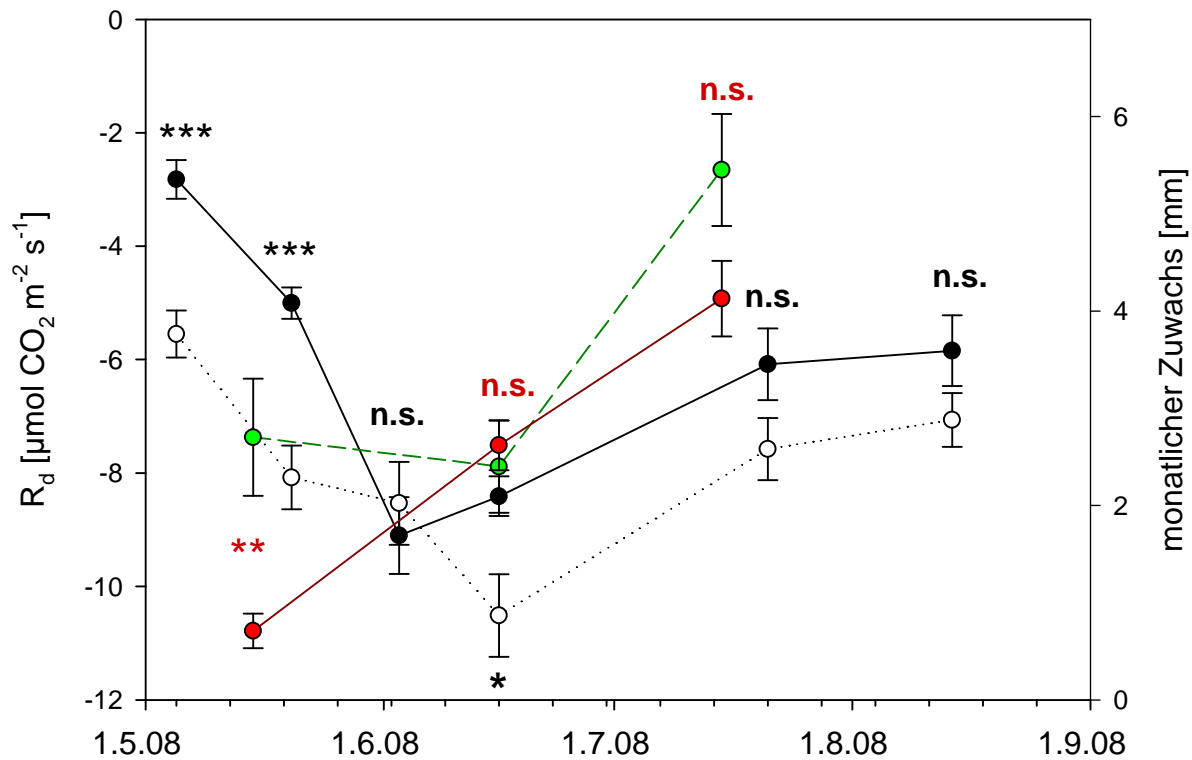


Abb. 37: Entwicklung der Dunkelatmung (R_d) in $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, gemessen an der Stammbasis von Kontrollerlen (weiß; $n = 8$) und *P. alni*-infizierten Erlen (schwarz; $n = 8$) über die Dauer von 3,5 Monaten; parallel dazu ist der monatliche Zuwachs der Durchmesser in mm von Mai bis Juli abgebildet (grün = Kontrolle; rot = infiziert); dargestellt sind MW, SE sowie jeweils Signifikanzniveaus zwischen Kontrollen und infizierten Erlen bezüglich des Gaswechsels (schwarz) und der Zuwächse (rot)

Insgesamt zeigte sich hinsichtlich der infizierten Erlen, dass ihre Atmungsaktivität tendenziell niedriger ausfiel als die der Kontrollen; darüber hinaus hatte sich die Atmung der beiden Gruppen leicht versetzt zueinander entwickelt: Die infizierten Erlen zeigten bereits zu einem früheren Messtermin maximale Atmungsraten (Anfang Juni) als die Kontrollen, um im Anschluss wieder unter deren Niveau abzusinken.

Der Atmungsverlauf in beiden Gruppen ist vor dem Hintergrund des saisonalen Wachstums zu betrachten. Bis in den Juni hinein erhöhte sich die Atmung stetig aufgrund der im Frühjahr einsetzenden Wachstumsprozesse.

Neben der Vergrößerung der Blattmasse setzt ebenfalls verstärkt das Wachstum des Sprosses ein, was sich sowohl im Höhen- als auch im Dickenwachstum der Individuen äußert und sich entsprechend neben der Erhaltungsatmung in einer erhöhten Wachstumsatmung niederschlagen muss. Die Erhaltungsatmung ist folglich um den jeweiligen Betrag der Wachstumsatmung erhöht.

Negisi zeigte bereits 1977, dass verschiedene Zuwachsraten Unterschiede in den Respirationsraten bewirken. In Abb. 37 sind für Mitte Mai, Juni und Juli der Durchmesserzuwachs des jeweils vorherigen Monats für beide Gruppen dargestellt. Daraus lässt sich für den gesamten Messzeitraum ein stetiger Zuwachs der Stammdurchmesser ablesen.

Die zu fast allen Zeitpunkten höheren Atmungsraten der Kontrollen können mit deren im Durchschnitt stärkerem Dickenwachstum zusammenhängen (vgl. auch Tab. 5). Das weniger ausgeprägte Dickenwachstum der infizierten Erlen wurde mit der räumlich nahen Infektion begründet (siehe Kapitel 4.3.1). Neben der partiellen Zerstörung der Bildungsgewebe ist auch das Fehlen von Energieträgern wie ATP eine Ursache für das reduzierte Dickenwachstum, deren Mangel infolge lokal reduzierter Photosynthese eintritt, wiederum begründet durch die Infektion. Ungeachtet des schwächeren Dickenwachstums und der damit verbundenen schwächeren Wachstumsatmung kommt es aber im Kontext von Stresszuständen, in diesem Fall ausgelöst durch eine Infektion, häufig zu unspezifischen Reaktionen wie etwa zum Anstieg der Atmung, möglicherweise im Rahmen von Abwehrreaktionen oder reparativen Synthesen (Larcher 2001). Dies stellte sich bei den infizierten Jungerlen in Anbetracht der Ergebnisse nicht ein. Es ist daher in Erwägung zu ziehen, ob das geringere Dickenwachstum des Stammes und die dadurch bedingte eingeschränkte Wachstumsatmung einen abwehrbedingten Atmungsanstieg überlagert hat.

Da aber die Inokulation der Bäume schon Mitte April durchgeführt wurde und die ersten Messungen erst 21 Tage nach der Infektion stattfanden, konnte sich *P. alni* innerhalb dieses Zeitraums, lokal betrachtet, bereits „durchsetzen“ und sich am Stamm im begrenzten Maße etablieren (vgl. 4.3.2). Aus diesem Grund ist es wahrscheinlicher, dass das Gewebe zu diesem Zeitpunkt in einigen Funktionen sowie seine Ressourcen betreffend bereits so eingeschränkt war, dass keine Energie verbrauchenden Abwehrreaktionen mehr stattfanden. Entsprechend konnte sich dies

auch nicht mehr in einer erhöhten Atmung niederschlagen. Anzeichen von Stress können sich je nach Belastungsgrad deutlich verändern.

Bezogen auf das monatliche Dickenwachstum zeigten sich im Mai und im Juli bei den Kontrollen größere Zuwächse als bei den infizierten Bäumen; diese konnten allerdings nur im Mai als signifikant größer bewertet werden ($p = 0,004$). In diesen Zeiträumen lag jeweils auch die Atmungsrate über denen der infizierten Erlen. Auffällig ist zudem, dass die höchsten monatlichen Zuwächse (Mitte Juli) nicht mit den Zeiten höchster Atmungsaktivität (Mitte Juni) zusammenfallen, sondern diesen nachfolgen. Diese zeitliche Verschiebung liegt darin begründet, dass sich Wachstumsprozesse bzw. Biomassezuwächse, als Folge einer erhöhten Stoffwechselaktivität (hier gemessen anhand einer Erhöhung von R_d), nicht unmittelbar vollziehen, sondern Zeit benötigen. Die zu den jeweiligen Zeitpunkten gemessenen Atmungsraten, finden somit erst in den nachfolgenden monatlichen Zuwächsen Ausdruck. So ist auch erklärbar, dass Mitte Juli in beiden Gruppen die größte Zunahme des Dickenwachstums gemessen werden konnte, obwohl bei der im Anschluss stattfindenden Gaswechselmessung (21.07.) die Dunkelatemungsraten wieder absanken: Die Gaswechsel-Messung *vor* der Ermittlung dieser Durchmesser (Juni) ergab nämlich die höchsten Atmungsraten der gesamten Vegetationsperiode, was auch ein verstärktes Wachstum nach sich zog.

Die höheren Achsen-Atmungsraten der Kontrollerlen deuten somit insgesamt auf eine vergleichsweise höhere metabolische Aktivität der beteiligten Achsengewebe hin. Durch mitochondriale Atmung der lebenden Zellen der Rinden- und Holzparenchyme wird CO_2 -generiert; dieses diffundiert über die Interzellularräume der Achsenorgane in lateraler Richtung aus dem Pflanzenkörper und wird als CO_2 -Efflux messbar (Pfanz et al. 2002). Darüber hinaus wird in der Literatur aber auch ein Zusammenhang zwischen Xylem- CO_2 -Konzentration und Stamm- CO_2 -Efflux diskutiert. So werden Variationen der Xylem- CO_2 -Konzentration von einigen Autoren mit einem erhöhtem Xylemsaft-Fluss in Verbindung gebracht und ihr Einfluss auf die Blattphotosynthese und den Achsen- CO_2 -Efflux diskutiert (u.a. Martin et al. 1994, Levy et al. 1999, Teskey und McGuire 2002, Teskey et al. 2008). Höhere Xylem- CO_2 -Konzentrationen der Kontrollpflanzen könnten demnach fälschlicherweise höhere Atmungsraten implizieren. Dieser Effekt wurde im Rahmen dieser Arbeit

dadurch minimiert, dass die Gaswechsellmessungen an zuvor abgedunkelten Bäumen durchgeführt wurden und das Substrat erst nach Abschluss der Messung gewässert wurde. Erhöhte Atmungsraten als Folge eines erhöhten Xylemsaftflusses sind somit weitgehend auszuschließen.

Durch mitochondriale Atmung wird aber nicht nur CO₂ generiert. Die mitochondriale Atmung verbraucht ihrerseits Sauerstoff, so dass die O₂-Konzentration im Gewebe verringert wird, während die CO₂-Konzentration ansteigt. Durch die Rindenphotosynthese kann dieser gegenläufige Effekt zumindest partiell kompensiert werden, da im Zuge der corticaren CO₂-Refixierung CO₂ konsumiert und O₂ produziert wird. Ein enges Zusammenspiel von mitochondrialer Atmung und Photosynthese im Cortex der Achsenorgane dient somit nicht nur dazu den CO₂-Verlust an die Atmosphäre zu minimieren, sondern außerdem dazu den molekularen Sauerstoff für eine kontinuierliche aerobe Atmung, und damit eine kontinuierliche Energiezufuhr bereit zu stellen. Darüber hinaus konnten Armstrong und Armstrong (2005) für junge Bäume von *Alnus glutinosa* zeigen, dass durch lichtinduzierte Rindenphotosynthese ein gerichteter Gastransport in Richtung Wurzeln angetrieben wird, der v.a. der Sauerstoffversorgung des submersen Wurzelsystems dient. Sie gehen davon aus, dass die Rindenphotosynthese die Gesamtkohlenstoffbilanz von Erlen messbar beeinflussen kann und diese eine wichtige Rolle in der Verhinderung von Hypoxien im Wurzelbereich spielt.

Eine lineare Abhängigkeit zwischen Achsenrespiration und Rindenphotosynthese konnte in dieser Arbeit im Rahmen der Gaswechsellmessungen an 0- und 1-jährigen Zweigen von *Alnus glutinosa* (Kapitel 4.4.1.3) gezeigt werden und wurde bereits für verschiedene andere Spezies belegt (Steinborn 1997, Aschan et al. 2001, Wittmann et al. 2001, Berveiller 2007, Wittmann und Pfan 2007). Zu berücksichtigen ist außerdem, dass bei den infizierten Erlen durch die lokale Infektion und die gebildeten Zungen in Abhängigkeit von deren Ausprägung potentiell atmungsaktives, lebendes Achsengewebe zerstört wurde (vgl. Abb. 29 sowie Abb. 34 - 36) und somit der Anteil lebenden Gewebes am Achsengewebe sank. Geht man davon aus, dass das generierte CO₂ primär auf die lokale Atmungsaktivität lebender Zellen des Rindenparenchyms zurückzuführen ist, verwundert es dem zur Folge auch nicht, dass an den betroffenen Stammabschnitten niedrigere Atmungsraten gemessen wurden.

Es muss allerdings darauf hingewiesen werden, dass es sich bei den Gaswechselergebnissen lediglich um punktuelle Messungen handelt und daher zwar saisonale Tendenzen erkennbar sind, Interpretationen und Erklärungen aber entsprechend vorsichtig gehandhabt werden müssen, da über weite Zeiträume nur interpoliert werden konnte.

4.3.5 Übergreifende Überlegungen

Die abschließende Betrachtung aller Ergebnisse ließ ein relativ klares Bild bezüglich dessen entstehen, was die Möglichkeiten der Einflussnahme von *P. alni* auf den Gaswechsel junger Bäumen betrifft:

Alle Jungerlen waren im Frühjahr 2009 wieder ausgetrieben und zeigten keinerlei optisch erkennbare Anzeichen einer Infektion; die Inokulationsstellen waren allesamt kallös. Demnach muss auch rückblickend eindeutig von einer rein lokalen Schädigung gesprochen werden, die von allen betroffenen Erlen überwunden wurde. Die Heterogenität, die sich bei der Größenentwicklung der Läsionen abzeichnete (Abb. 29), zeigte sich schließlich in ebensolcher Heterogenität bei den maximalen Quantenausbeuten und bei den Absorptionskoeffizienten im nahen Infektionsumfeld (Abb. 34 bis 36). Trotz allem büßten alle infizierten Erlen im Vergleich zu den Kontrollen ihre Photosynthesefähigkeit in begrenztem Maße lokal ein. Die mazerierten Gewebeabschnitte und das partiell zurückgesetzte photosynthetische Vermögen im nekrotischen Bereich und dessen Umfeld setzten sich fort in einer reduzierten Stamatmung, die im gleichen Abschnitt lokalisiert war.

Diese Reduktion kann unterschiedlich begründet sein: Dysfunktionen in der Lichtreaktion, gezeigt anhand der herabgesetzten Fv/Fm-Werte, können zu einer verminderten Bereitstellung von Reduktionsäquivalenten (NADPH₂) und Energieträgern (ATP) führen. Daraus resultiert, dass für den CO₂-Einbau im Calvin-Zyklus nicht genügend NADPH₂ und ATP zur Verfügung gestellt werden kann. Eine gebremste Synthese und Bereitstellung von Assimilaten kann schließlich zu einer Reduktion der Energiebilanz der Glykolyse sowie der Atmung führen, wenn Kohlenhydrate lokal zum begrenzenden Faktor dieser Prozesse werden. Aufgrund der partiellen Rindenzerstörung wird auch der Phloemtransport zu diesen vermeintlichen Assimilatsenken entsprechend gehemmt gewesen sein.

Auf der anderen Seite führt eine Verringerung der Atmung gleichzeitig zu einer eingeschränkten Bereitstellung von CO₂ im Rindengewebe, so dass im Umkehrschluss ebenfalls eine verringerte Atmung eine Verminderung der Photosynthese bedingen kann. Wenn der Calvin-Zyklus bedingt durch CO₂-Mangel langsamer abläuft und sich Reduktionsäquivalente und ATP anreichern, wirkt sich dies schließlich aufgrund von Rückstauungen der Elektronen auch auf die Lichtreaktion aus. Eine verringerte Atmung könnte im Falle einer *Phytophthora*-Infektion auch das Ergebnis einer hemmenden Wirkung von Toxinen sein.

Da Lichtreaktion, Calvin-Zyklus und Atmung bei der Photosynthese bedingt voneinander ablaufen bzw. aneinander gekoppelt sind, ist es nicht eindeutig festzulegen, an welcher Stelle und durch welche Störfaktoren die Hemmung der Prozesse begründet ist.

Neben den physiologischen bewirkten die Infektionen auch anatomische Veränderungen, da sie das Dickenwachstum an den Stammbasen signifikant verringerten. Gleichzeitig war der Befall durch *P. alni* deutlich lokal begrenzt, so dass der unbelastete Rinden- (und Holz-)Querschnitt noch genügend groß war, um die Versorgung von Wurzeln bzw. Krone zu gewährleisten. Entsprechend zeigten sich keine Auswirkungen bezüglich des Höhenwachstums.

Insgesamt stellten sich die infizierten jungen Erlen als widerstandsfähig gegenüber *P. alni* heraus. Dies mag zum einen an der Tatsache der Einfachinokulation gelegen haben, wodurch das Pathogen von Beginn an nur eingeschränkt die Möglichkeit zur Ausbreitung erhielt, und zum anderen am vitalem Zustand der Jungpflanzen, der durch regelmäßige Nährstoffbereitstellung unterstützt wurde. Aus Kartierungen geht hervor, dass zwar Bäume fast aller Altersstadien betroffen sind, dass aber vor allem an Bäumen zwischen sechs und 15 Jahren Symptome beobachtet werden können, während im Freiland Bäume zwischen einem und fünf Jahren nur selten Symptome aufweisen (Jung und Blaschke 2003).

4.4 Untersuchungen an adulten Erlen (Freiland)

Die Untersuchungen an adulten Erlen wurden an etwa 15-jährigen Exemplaren durchgeführt, die entlang eines Bachs im Münsterland (Dülmen-Karthus) positioniert waren. Nach den Blüten- und Fruchtständen als generativen Organen, die ebenfalls von diesem Standort bezogen wurden (4.1), lag der Fokus schließlich auf den

vegetativen Organen der adulten Bäume, und zwar auf deren Zweig- und Stammebene. Stämme bilden dabei den direkten Infektionsort, während Zweige wahrscheinlich indirekt betroffene Organe darstellen.

Unter Vernachlässigung der Blüten- und Fruchstände bildeten die adulten Erlen das letzte Stadium in der Entwicklung von *Alnus glutinosa* (vgl. Abb. 3, IV.).

4.4.1 Zweige

4.4.1.1 Peridermtransmission bei 0- und 1-jährigen Zweigen

Die Durchlässigkeit des Periderms für photosynthetisch aktive Strahlung ist eine wesentliche Voraussetzung für rindenphotosynthetische Aktivität. Ein wesentlicher Bestandteil der Rindenphotosynthese ist die CO₂-Refixierung von stamminternem Atmungs-CO₂. Letztere steuert positiv zum Gesamtkohlenstoffhaushalt von Pflanzen bei (Pfanzen et al. 2002).

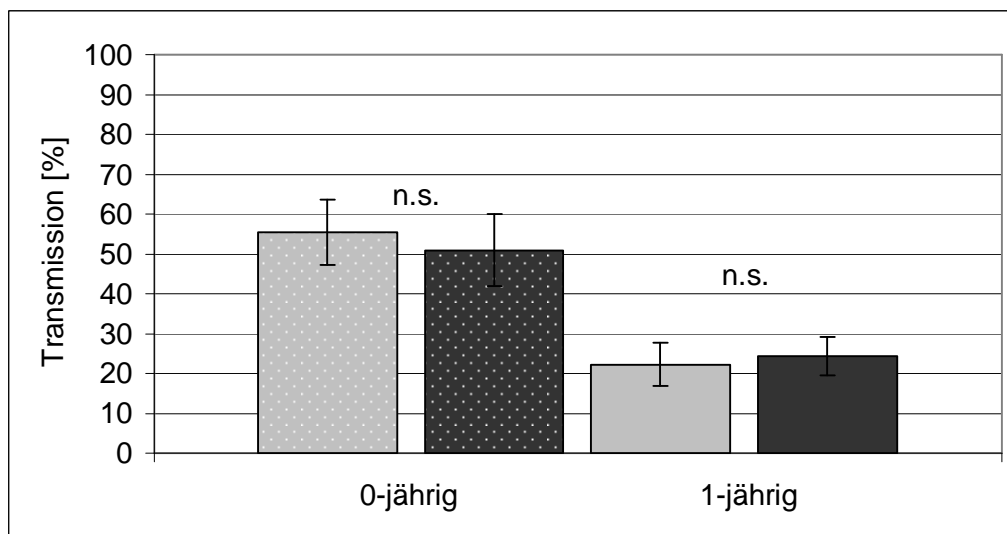


Abb. 38: Peridermtransmission bei 0- und 1-jährigen Zweigen optisch gesunder Erlen (grau; n = 8 und n = 9) sowie bei entsprechenden Zweigen *Phytophthora*-infizierter Erlen (schwarz; n = 10 und n = 9); dargestellt sind MW, SD und Signifikanzniveaus

Die 1-jährigen Erlen zweige wiesen gegenüber den 0-jährigen ein geringeres Transmissionsvermögen auf; während bei den 1-jährigen durchschnittlich 22,2 % (Kontrollen) bzw. 24,4 % (infiziert) der photosynthetisch aktiven Strahlung bis zum chlorenchymatischen Gewebe transmittierte, konnte bei den 0-jährigen 55,4 % (Kontrollen) bzw. 51,0 % (infiziert) der Strahlung das Periderm passieren (Abb. 38).

Entsprechend war die Transmission bei 1-jährigen um 60 % (Kontrollen) bzw. um 52 % (infiziert) im Vergleich zu den 0-jährigen reduziert. Die Herabsetzung der Lichttransmission durch das Periderm in Verbindung mit zunehmendem Zweig- / Stammalter ist hinreichend untersucht worden (Kauppi 1991, Aschan et al. 2001).

Die Lichtdurchlässigkeit der Abschlussgewebe ist verglichen mit anderen sommergrünen Bäumen vergleichsweise hoch angesetzt. In Gegenüberstellung zeigten Periderme 1-jähriger Zweige von *Betula spec.* 15 % Transmission (Kauppi 1991), von *Fagus sylvatica* 19 % (Wittmann et al. 2001) und von *Acer pseudoplatanus* 9 % (Pfanzen und Aschan 2000). Das peridermale Transmissionsvermögen von *Populus tremula* ist mit 26 % (Aschan et al. 2001) dem der Erle am ähnlichsten. Wie bei der Erle handelt es sich bei der Zitterpappel um eine schnell wachsende Pionierbaumart.

Die Unterschiede bezüglich der peridermalen Transmission zwischen den gleichaltrigen Zweigen infizierter und nicht infizierter Erlen waren dagegen verschwindend gering (vgl. Abb. 38 und Tab. 6).

Bei einer auf das Periderm treffenden Lichtintensität von $850 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ gelangten etwa zwischen 433 und 471 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ bis zum Rindengewebe der 0-jährigen Zweige, während das Periderm der 1-jährigen zwischen 189 und 207 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ der auftreffenden Strahlung durchließ.

Die Infektion des Stammes hatte bei den zu untersuchenden Erlen folglich keine Auswirkungen auf die Lichtdurchlässigkeit der Abschlussgewebe der neugebildeten und letztjährigen Triebe in den Baumkronen.

Tab. 6: Absolute, auf der Rinde auftreffende Lichtintensität, korrigiert um peridermale Transmission (Abb. 38); dargestellt sind MW und SD

	Lichtintensität [PAR]	Stabw
Lichtquelle	850	
1-j gesund	188,79	46,16
1-j infiziert	207,32	40,80
0-j gesund	470,99	68,94
0-j infiziert	433,08	77,52

4.4.1.2 Pigmentgehalte in Erlenzweigen

Bezüglich der Pigmente von Rinde und Holz wurden nur die Chlorophyllgehalte bewertet. Carotinoide wurden nicht berücksichtigt, da deren Gehalt in unbearbeiteten Extrakten bei spektrophotometrischen Verfahren deutlich überbewertet werden kann, wenn Phenole dabei in großer Menge co-extrahiert werden (Levizou et al. 2004). Gerade bei stark phenolhaltigen Pflanzenorganen mit einem geringen Verhältnis von photosynthetischen zu heterotrophen Zellen wie etwa Zweigen kann es bezüglich der Carotinoide zu Fehleinschätzungen kommen.

Es zeigten sich bei der Rinde, sowohl die 0-jährigen als auch die 1-jährigen Zweige betreffend, hoch bis höchst signifikante Unterschiede zwischen Zweigen nicht infizierter und infizierter Schwarzerlen sowohl bei den Chlorophyllen a als auch b (vgl. Abb. 39); hinsichtlich des Gesamtchlorophyllgehalts waren die Unterschiede in jedem Fall höchst signifikant.

Bezogen auf die Fläche wiesen 0-jährige Zweige infizierter Bäume mit 137 mg m^{-2} einen um 50,5 % geringeren Gesamtchlorophyllgehalt auf als gesunde mit 278 mg m^{-2} ; auf das Frischgewicht bezogen lag der Unterschied sogar bei 57,3 % (vgl. Abb. 39a und Tab. 7).

Bei den 1-jährigen ergab sich ein ähnliches Bild; auch hier waren die Chlorophyllgehalte der Zweige infizierter Erlen im Vergleich zu denen gesunder Bäume deutlich reduziert.

Bei den infizierten Zweigen konnte lediglich ein Gesamtchlorophyllgehalt von 191 mg m^{-2} gemessen werden, sie hatten im Verhältnis 27,2 % weniger Chlorophylle als die gesunden mit 263 mg m^{-2} eingelagert. Beim Frischgewichtsbezug lag die Differenz wiederum erhöht bei 42,3 % (vgl. Abb. 39a und Tab. 7).

Die Unterschiede zwischen den Chlorophyllkonzentrationen bei Flächen- und Frischgewichtsbezügen, sowohl bei den 0- als auch den 1-jährigen, sprechen für ein erhöhtes Volumen der chlorenchymatischen Gewebe auf Seiten der infizierten Erlen. Tatsächlich konnte bei den entsprechenden 0- und 1-jährigen Zweigen eine ausgeprägtere absolute Rindendicke gemessen werden, die bei den 0-jährigen knapp signifikant stärker war (Tab. 8). Der Unterschied war allerdings bei den 0-jährigen nicht mehr signifikant, wenn man die Rindendicke in Relation zum Zweigdurchmesser bewertete, da die infizierten Zweige einen etwas größeren

Gesamtdurchmesser aufwiesen als die Kontrollen. Trotz allem sind tendenzielle Abweichungen in der Gewebeentwicklung erkennbar.

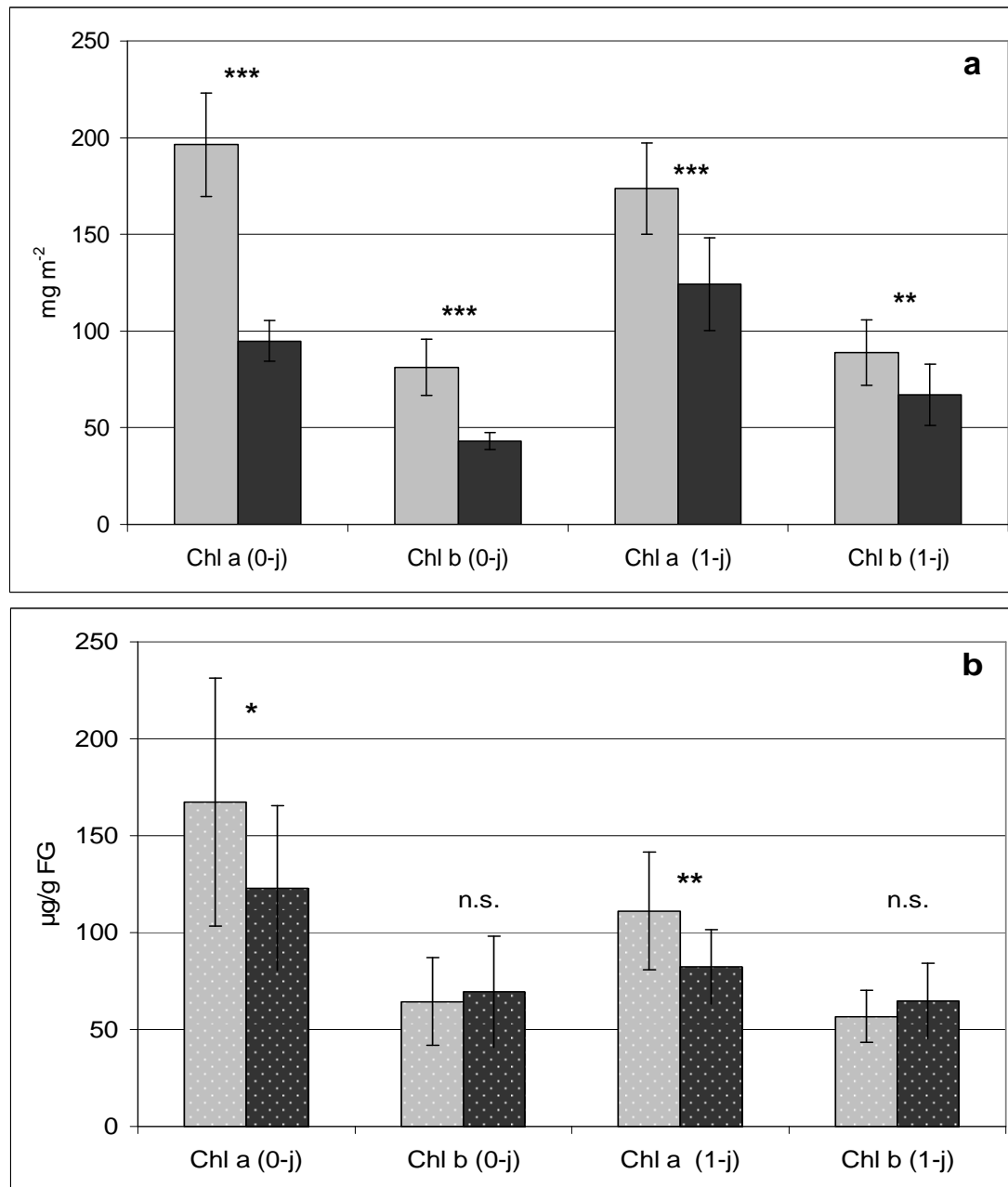


Abb. 39: Vergleich von Pigmenten (Chl a, Chl b), extrahiert aus Rinde (a; in mg m⁻²) und Holz (b; in µg pro g FG) von 0-jährigen und 1-jährigen Kontrollzweigen (grau; n = jeweils 13) und 0-jährigen und 1-jährigen Zweigen *P. alni*-infizierter Erlen (schwarz; n = jeweils 13); dargestellt sind MW, SD sowie Signifikanzniveaus zwischen den Vergleichsgruppen

Tab. 7: Gesamtchlorophyllgehalt und Chlorophyll a/b-Verhältnisse von Zweigen *P. alni*-infizierter und nicht infizierter Zweige (0- und 1-jährig; n = jeweils 13); dargestellt sind MW und SE

		0-jährig (Kontrolle)	0-jährig (infiziert)	1-jährig (Kontrolle)	1-jährig (infiziert)
Rinde	Chl a+b (mg m ⁻²)	277,7 ±10,9	137,4 ±3,8	262,6 ±10,3	191,3 ±11,2
	Chl a+b (mg g ⁻¹ FG)	1,056 ±0,12	0,451 ±0,04	0,937 ±0,06	0,541 ±0,07
	Chl a/b	2,45 ± 0,07	2,29 ± 0,07	1,99 ± 0,09	1,87 ± 0,05
Holz	Chl a+b (µg g ⁻¹ FG)	230 ±20	190 ±20	170 ±10	150 ±9

Tab. 8: Vergleich der Rindendicken sowie der Gesamtanteile corticularer Gewebe am Zweigdurchmesser (Anteil Ø) von Zweigen *P. alni*-infizierter Erlen und symptomfreier Erlen (n= jeweils 13); dargestellt sind MW, SE sowie Signifikanzniveaus

	0 – jährig Kontrolle	0 – jährig Infiziert	1 – jährig Kontrolle	1 – jährig Infiziert
Rindendicke [µm]	0,032 (± 0,003)	0,038 (± 0,001)	0,037 (± 0,003)	0,041 (± 0,002)
Signifikanzniveau	p = 0,05 (*)		p = 0,249 (n.s.)	
Anteil Ø [%]	28,94 (±2,48)	34,36 (±1,33)	26,68 (±1,13)	30,05 (±1,33)
Signifikanzniveau	p = 0,066 (n.s.)		p = 0,065 (n.s.)	

Hinsichtlich der Chlorophyll a/b-Verhältnisse (Tab. 7) gab es innerhalb der Alterstufen keine signifikanten Unterschiede zwischen gesunden und infizierten Zweigen (p = 0,16 bei 0-jährigen, p = 0,26 bei 1-jährigen), was vermutlich darauf zurückzuführen ist, dass die Chlorophylle a und b bei der infizierten Fraktion in gleichem Maß weniger synthetisiert wurden und das Verhältnis entsprechend erhalten blieb.

Die Pigmente des Holzanteils wurden nur auf das Frischgewicht bezogen; der Flächenbezug wurde nicht hergestellt, um den Pigmentgehalt pro Fläche nicht überzubewerten, da hierbei der 3D-Charakter des Holzkörpers vernachlässigt werden würde.

Bei der differenzierten Betrachtung der einzelnen Pigmente konnten zwar noch signifikante Unterschiede zwischen Zweigen infizierter und nicht infizierter Erlen im Bezug auf die Chlorophyll a-Gehalte ermittelt werden (siehe Abb. 39b); beim Vergleich der Gesamtchlorophyllgehalte gab es jedoch keine wesentlichen Differenzen mehr zwischen den beiden Gruppen ($p = 0,21$ bei 0-jährigen, $p = 0,17$ bei 1-jährigen).

Die Chlorophyllgehalte Holz nahmen sowohl bei gesunden als auch bei infizierten Zweigen mit zunehmendem Alter ab ($p = 0,02$ und $p = 0,04$).

Die Chlorophyllgehalte der Rindengewebe gesunder Schwarzerlenzweige liegen mit 263 und 278 mg m^{-2} in dem Spektrum der von Pfanz et al. (2002) ermittelten Pigmentgehalte von Rindengeweben verschiedener sommergrüner Baumarten, die artabhängig zwischen 100 (*Ulmus laevis*) und 500 (*Quercus robur*) $\text{mg Chlorophyll m}^{-2}$ lagen.

Abgesehen von den nur geringen Unterschieden zwischen den beiden Alterstufen (0-jährig vs. 1-jährig, siehe Tab. 7) waren die Differenzen innerhalb der Alterstufen bei den Pigmentgehalten der Rindengewebe zwischen Zweigen infizierter und nicht infizierter Erlen erheblich.

In Pigmentanalysen an der Stammbasis von *P. alni*-inokulierten 3-jährigen Erlen konnte zwar bereits gezeigt werden, dass der Pigmentgehalt, ausgehend von *P. alni*-unbelasteten Kontrollbereichen in Richtung eines Infektionsherds, deutlich in Abhängigkeit vom Schädigungsgrad durch *P. alni* absinken kann (Jüptner 2006); anders als im Rahmen der vorliegenden Untersuchung war dort allerdings der direkte lokale Zusammenhang zwischen dem Pathogen und dem (mechanischen) Schaden an der Rinde gegeben.

Bei Pigmentanalysen an Blättern *P. alni*-infizierter und gesunder Bäume (Freiland) ergaben sich bei Jüptner (2006) jedoch ebenfalls Differenzen, die mit denen der hier ermittelten Zweigchlorophylle vergleichbar sind; unbeeinträchtigte Blätter wiesen einen 1,75 mal höheren Gesamtchlorophyllgehalt auf als Blätter geschädigter Erlen. Begründet wurde der geringere Chlorophyllgehalt in den Blättern durch einen Mangelzustand in den Kronen infizierter Bäume, der durch die Beeinträchtigung der Wasser- und Nährstoffaufnahme durch die Wurzel infolge der Stammschädigung entsteht. Nach Tranquillini (1992) steht ein Anstieg im Chlorophyllgehalt in direkter Verbindung zu einer steigenden Nährstoffversorgung, was dieser im Speziellen für

Stickstoff und Eisen in Blättern belegte. Auf diesem Hintergrund konnte Clemenz (2007) in Blättern von künstlich infizierten Erlen einen geringeren Stickstoffgehalt ermitteln, sowie zusätzlich reduzierte Magnesium-Blattspiegelwerte, wobei letzteres essentiell für den Aufbau von Chlorophyll ist. Für die geringeren Pigmentgehalte in Zweigen gilt letztlich die gleiche Argumentation wie die für die Blätter. Vergleichbares zeigte sich bereits in den Analysen an Erlenzapfen (vgl. Kapitel 4.1.3).

Mit dieser Gegenüberstellung wird ein weiteres Mal darauf hingewiesen, dass *Phytophthora*-Infektionen systemisch wirken und daher auf unterschiedlichsten Organebenen Schädigungspotential besitzen.

Die Volumenerhöhung der Rindengewebe junger Zweige infizierter Erlen kann eine kompensatorische Reaktion auf den reduzierten Aufbau von Chlorophyllen darstellen. Veränderungen von Gewebestrukturen unter dem Einfluss von Stressoren sind bekannt (Matyssek et al. 2002).

Im Hinblick auf den Altersaspekt konnten nur geringfügig Unterschiede festgestellt werden (Tab. 7).

Zwischen den 0-jährigen und 1-jährigen Zweigen nicht infizierter Erlen zeigten sich weder flächenbezogen noch gewichtsbezogen Unterschiede bezüglich des Gesamtchlorophyllgehaltes ($p = 0,32$ und $p = 0,38$), wohl aber zwischen den beiden Altersstufen infizierter Bäume ($p < 0,001$); dort wiesen die 1-jährigen mit 39,2 % mehr Chlorophyll bezogen auf die Fläche auf als die 0-jährigen. Bezogen auf das Frischgewicht waren allerdings auch hier keine erkennbaren Unterschiede zwischen 0- und 1-jährigen mehr vorhanden ($p = 0,26$). Die geringen Kontraste zwischen den beiden Alterstufen liegen unter Umständen am zu geringen Altersunterschied, denn gewöhnlich sind Unterschiede in den Chlorophyllgehalten von Stämmen und Zweigen in Abhängigkeit vom Alter festzustellen (Pearson und Lawrence 1958, Glase und Granet 1978, Aschan et al. 2001).

Hinsichtlich des Chlorophyll a/b-Verhältnisses waren die Unterschiede zwischen den Altersstufen höchst signifikant ($p < 0,001$) aufgrund der verhältnismäßig höher angesetzten Chlorophyll b-Gehalte der 1-jährigen (Abb. 39a), was als eine zunehmende Schattenadaption gewertet werden kann. Rindengewebe gelten im Vergleich zu Blättern generell als schattenangepasst, da die Strahlung durch Periderm bzw. Borke auf ihrem Weg zu den chlorenchymatischen Geweben abgeschwächt wird (Murchie und Horton 1997). Die für Blätter hinreichend

untersuchte Tatsache, dass Schattenblätter geringere Chlorophyll a/b-Quotienten aufweisen als Sonnenblätter (Lichtenthaler et al. 1981, Terashima und Hikosaka 1995, Larcher 2001), findet sich oft in gleicher Weise in licht- oder schattenexponierten Zweigen wieder (Larcher et al. 1988). Mit Werten zwischen 1,87 bis 2,45 lagen die Chlorophyll a/b-Verhältnisse von 0- und 1-jährigen Zweigen noch unterhalb derer von Erlenblättern aus Innenkronen (Eschenbach 1995), die bei 3,2 eingeordnet wurden, und auch unterhalb derer von Schattenblättern anderer sommergrüner Bäume (z.B. 3,0 bei *Fagus sylvatica*, Lichtenthaler et al. 1981).

4.4.1.3 Gaswechsel infizierter und gesunder Zweige

Die Untersuchungen auf der Zweigebene wurden um den Aspekt des Gaswechsels erweitert. In diesem Zusammenhang sollten sowohl die Dunkelatmung als auch der Zweig-Gaswechsel bei Belichtung erfasst werden. Zu letzterem Zweck fand eine Korrektur der Lichtintensitäten für die jeweilige Gruppe von Zweigen entsprechend der peridermalen Transmissionswerte statt (Tab. 6).

Demnach erreichten die chlorenchymatischen Gewebe der 0-jährigen Zweige insgesamt höhere Strahlungsintensitäten als die 1-jährigen. Die Vergleichbarkeit müsste aber trotz der Differenzen gegeben sein: Zum Beispiel zeigte Damesin (2003) an diesjährigen Zweigen von *Fagus sylvatica*, dass sich ab einer Lichtintensität von $> 500 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, gemessen an der Probenoberfläche, die Werte des CO_2 -Efflux generell stabilisierten und sich eine Lichtsättigung einstellte. In anderen Studien kam man zu ähnlichen Ergebnissen. Sättigende Lichtintensitäten für Zweige und Stämme kamen demnach sogar schon ab $250 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ vor und lagen maximal bei $600 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, was die Einschätzung der extremen Schattenadaption von Rindengeweben unterstreicht (Pilarski 1989, Pfanz et al. 2000, Wittmann et al. 2001). Wenn bei den angegebenen Strahlungsintensitäten nach einer Korrektur mit dem prozentualen Anteil des transmittierenden Lichtes nur $100 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ die chlorenchymatischen Gewebe erreichen würden, ist dies vergleichbar mit der Strahlung, die schattenadaptierte Chloroplasten beanspruchen (Damesin 2003).

Entsprechend wurde bei der vorliegenden Messung davon ausgegangen, dass im Falle der Belichtung mit $850 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ lichtsättigende Bedingungen für alle vier Gruppen geschaffen wurden.

Die Gaswechsellmessungen zeigten sich vor allem hinsichtlich der 0-jährigen Zweige als aufschlussreich.

Sowohl bei Abdunklung als auch bei Belichtung konnte bei den 0-jährigen Zweigen infizierter Bäume bezogen auf die Fläche eine hoch sowie höchst signifikant ($p = 0,003$ und $p = 0,0001$) stärkere Atmungsaktivität gemessen werden als bei denen gesunder Erlen (Abb. 40, 1a und 2a).

Im Gegensatz dazu zeigten sich zwischen den 1-jährigen geringere Differenzen, wobei aber die Atmungsaktivität der gesunden Zweige sowohl bei Dunkelheit als auch bei Belichtung jeweils stärker angelegt war als bei den infizierten Zweigen (Abb. 40, 1a und 2a). Der Unterschied war bei Dunkelheit allerdings nur fast signifikant ($p = 0,051$) und bei Belichtung nicht signifikant ($p = 0,126$).

Die Bruttphotosynthese bzw. corticulare Photosynthese wurde über die Differenz zwischen dem CO_2 -Gaswechsel bei Belichtung und der Dunkelatmung berechnet (Gleichung 15) und ist in Abb. 40, 3a dargestellt.

Die Zweigphotosynthese der 0-jährigen infizierten Zweige war dabei tendenziell höher als die der vergleichbaren gesunden ($1,60 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ in Gegenüberstellung zu $1,36 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), jedoch nicht signifikant höher ($p = 0,40$).

In der Gruppe der 1-jährigen hingegen zeigte sich eine signifikant höhere Photosyntheseaktivität aufseiten der optisch gesunden Zweige ($1,40 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ im Gegensatz zu $0,95 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; $p = 0,01$).

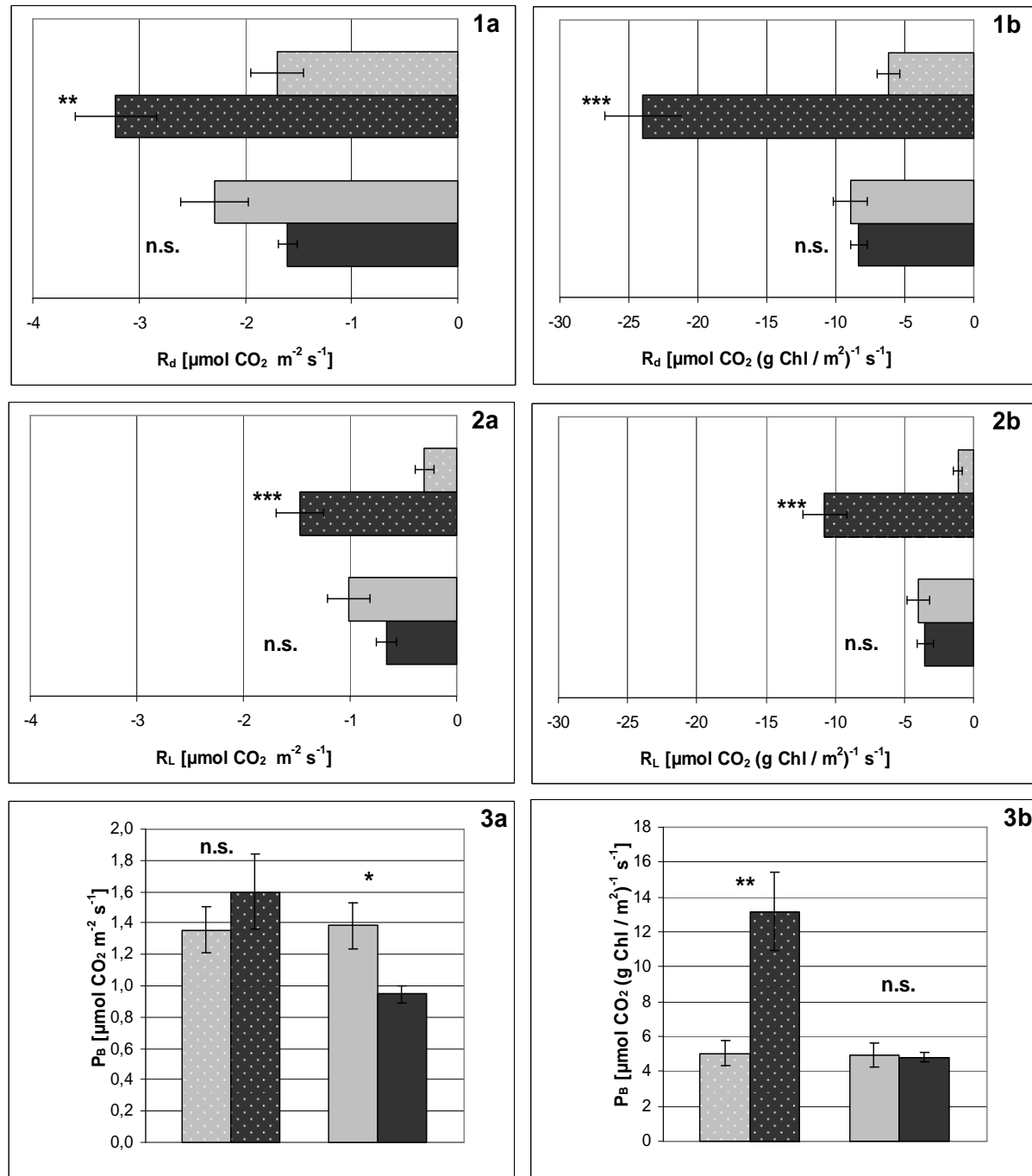


Abb. 40: Dunkelatmung, R_d (1), CO_2 -Gaswechsel bei Belichtung mit 850 PAR, R_L (2) und Bruttophotosynthese, P_B (3) von 0-jährigen Zweigen (gepunktet) und 1-jährigen Zweigen (uni) optisch gesunder Erlen (grau, $n = 11$ und $n = 10$) sowie von entsprechenden Zweigen *Phytophthora*-infizierter Erlen (schwarz, $n =$ jeweils 10); Verglichen werden jeweils (a) Respiration / Photosynthese in $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ mit (b) der Respiration / Photosynthese im Bezug auf den Chlorophyllgehalt des Gewebes [$\mu\text{mol CO}_2 (\text{g Chl} / \text{m}^2)^{-1} \text{ s}^{-1}$]; dargestellt sind MW, SE sowie Signifikanzniveaus zwischen infizierten und nicht infizierten Erlen

Bislang liegen zu *Alnus glutinosa* keine Daten zur Rindenatmung so junger Zweige vor, weshalb sich ein Vergleich als schwierig gestaltet, da bislang nur Messungen an

deutlich älteren Ästen mit Durchmessern $> 1\text{ cm}$ durchgeführt wurden (Steinborn et al. 1997).

Die Raten der Dunkelatmung (R_d), die Atmungsraten bei Belichtung (R_L) und die aus deren Differenz resultierenden Photosyntheseraten (P_B) wurden schließlich in Abb. 40, 1b bis 3b in Bezug zu den Chlorophyllgehalten der jeweiligen Rindengewebe dargestellt [$\mu\text{mol CO}_2 (\text{g Chl} / \text{m}^2)^{-1} \text{s}^{-1}$] (vgl. auch 4.4.1.2).

Tendenzen, die sich in Abb. 40, 1a bis 3a bereits andeuten, kristallisieren sich über den Pigmentbezug deutlich heraus:

Sowohl die Dunkelatmungsraten der 0-jährigen infizierten als auch deren Atmungsraten bei Belichtung waren gegenüber den unbelasteten Zweigen höchst signifikant erhöht ($p = 0$). Bei den 1-jährigen Zweigen zeigten sich bezüglich der Respiration hingegen überhaupt keine erkennbaren Unterschiede mehr zwischen den beiden Gruppen. Entsprechend konnte für die 1-jährigen auch kein Unterschied mehr im Hinblick auf deren photosynthetische Aktivität festgestellt werden ($p = 0,85$). Für die 0-jährigen hingegen ergaben sich durch die Einbindung des Chlorophyllbezugs in die Berechnung der zweiginternen Photosynthese hoch signifikant effizientere Photosyntheseraten aufseiten der infizierten Zweige ($p = 0,002$). Sie zeigten maximale Refixierungsraten von $13,18 \mu\text{mol CO}_2 (\text{g Chl} / \text{m}^2)^{-1} \text{s}^{-1}$ im Gegensatz zu $5,04 \mu\text{mol CO}_2 (\text{g Chl} / \text{m}^2)^{-1} \text{s}^{-1}$ aufseiten der Kontrollzweige.

Den relativ hohen CO_2 -Refixierungsraten der Zweige infizierter Erlen standen demnach deutlich geringere Chlorophyllgehalte gegenüber, als es bei den entsprechenden Kontrollen der Fall war (vgl. Tab. 7). Dieser Unterschied war bei den 0-jährigen mit einem 50,5 % geringeren Chlorophyllanteil stärker ausgeprägt als bei den 1-jährigen, die 27,2 % weniger Gesamtchlorophyll aufwiesen.

Vor diesem Hintergrund müssen die 0-jährigen Zweige infizierter Erlen photosynthetisch extrem effizient gewesen sein; sie zeigten im Durchschnitt um 161,7 % höhere CO_2 -Refixierungsraten.

Den hohen Atmungs- und Photosyntheseraten können unterschiedliche Ursachen zugrunde liegen: Diskutiert werden müssen verstärkte Wachstumsatmung und eine kompensatorisch bedingte Erhöhung der photosynthetischen Aktivität sowie eine stressinduziert erhöhte Atmung.

Es ist bekannt, dass *P. alni*-infizierte Erlen je nach Stadium der Infektion ihre Belaubung deutlich reduzieren bis hin zur völligen Blattlosigkeit. Clemenz (2007) konnte an symptomtragenden Bäumen nur ein Drittel von der Blattdrockensubstanz pro Astquerschnittsfläche ermitteln, die symptomlose Bäume aufweisen würden, wobei die auf die Gesamtkrone berechnete Blattdrockensubstanz sogar auf ein Achtel reduziert war. Die Reduzierung der Belaubung wurde als Reaktion auf den Verlust der Wasserleitfähigkeit des Stammes gewertet, um die Wasser- und Nährstoffverfügbarkeit für die verbleibende Krone gewährleisten zu können.

Es ist anzunehmen, dass im Zuge der Blattreduktion ein Engpass in der Bereitstellung von Assimilaten entsteht. Besonders 0-jährigen Zweigen müsste als photosynthetisch aktiven Organen im Rahmen des zunehmenden Belaubungsverlustes eine besondere Rolle in der Verfügbarmachung von Kohlenstoff zukommen: Es wird mittlerweile davon ausgegangen, dass durch corticulare CO₂-Refixierung, besonders durch junge Zweige und Äste, der potentielle, durch Respiration herbeigeführte CO₂-Verlust um 60 – 90 % kompensiert werden kann (Pfanz et al. 2002, Aschan et al. 2003). Die CO₂-Konzentration im Innern der Zweige (zumeist als Xylem-CO₂-Konzentration gemessen) kann zudem zwischen 1 und 26 % liegen (Jensen 1969, Carrodus und Trifett 1975); darüber hinaus können Zweigchlorophyllgehalte an die von Blättern mit 50 – 70 % heranreichen (Solhaug et al. 1995, Schmidt et al. 2000). Das photosynthetische Potential von Rindengewebe für die Gesamtkohlenstoffbilanz von Bäumen ist folglich nicht zu unterschätzen, und es ist zu überlegen, inwiefern junge Zweige symptomtragender Erlen anteilmäßig die Aufgaben der rückläufigen Belaubung mittragen.

Im Kontext der Infektion können eine verstärkte (Wachstums-)Atmung und erhöhte photosynthetische Aktivität als kompensatorische Prozesse schließlich nicht ausgeschlossen werden.

Ähnlich wie bei den Erlen Zweigen konnten Wittmann et al. (2007) an 0-jährigen Zweigen 2-jähriger Bäume von *Betula pendula*, die zehn Wochen ozonexponiert waren, ebenfalls sowohl einen Anstieg der Dunkelatemungsraten bei steigenden Ozonkonzentrationen als auch einen Anstieg der Photosyntheseraten ermitteln. Gleichzeitig zeigten Blätter abweichende Reaktionen zu Zweigen; unter den gleichen Ozonkonzentrationen erzeugten sie stabile Dunkelatemungsraten, aber signifikante

Einbußen in den Photosyntheseraten. Ebensolche Einbußen zeigten Blätter von *Alnus glutinosa* unter *P. alni* induziertem Stress (Clemenz 2007).

Pflanzen zeigen verschiedene Mechanismen, um Stress entgegenzuwirken. Im Falle von Ozon wird ein Atmungsanstieg bei Pflanzen unter anderem mit Reparatur- und Detoxifikationsprozessen als direkte Reaktion auf Radikale begründet (Maurer et al. 1997). Direkte Reaktionen entstehen durch den direkten Kontakt der Gewebe mit eindringendem Ozon, wie es beispielsweise bei Blättern durch Stomata als Pforten begünstigt wird.

Allerdings zeigten Wittmann et al. (2007) im Bezug auf Zweige von Birken, dass deren Leitfähigkeit für Ozon nur ein Zwanzigstel derer von Blättern betrug und dass die direkte Ozonaufnahme über das Periderm im Vergleich nur 5 – 9 % derer von Blättern betrug. Demnach konnte auch der Atmungsanstieg bei den Zweigen nicht über einen direkten Ozonkontakt an den Chlorenchymen erklärt werden, sondern eher als eine indirekte Stressreaktion. Eine durch *P. alni* induzierte Stressatmung im Kronenbereich trotz des fehlenden unmittelbaren Kontaktes wäre daher ebenfalls denkbar.

Die durch *P. alni* entstehenden Symptome in der Krone werden bisher weitgehend durch den aus Wurzel- und Wurzelhalsfäulen resultierenden Nährstoff- und Wassermangel im Kronenbereich erklärt, wobei diese, aus einer Dysfunktion des Holzkörpers resultierenden, Mangelzustände lediglich eine sekundäre Reaktion auf die Rindendestruktion durch *P. alni* darstellen.

Phytophthora-spezifische Elicitoren, denen toxisches Potential zugesprochen wird (Bonnet et al. 1986, Churngchow 1999, Nespoulous et al. 1992) und die sich von Wunden aus mit dem Xylemstrom in Pflanzen verbreiten können (Zanetti 1992) werden ebenfalls als mögliche, im Kronenbereich von Schwarzerlen symptomauslösende Stoffe diskutiert (Brummer et al. 2002, Oßwald et al. 2000). Jedoch sprechen unter anderem Untersuchungsergebnisse von Fleischmann et al. (2005) dagegen, anhand derer beispielsweise eine systemische Einflussnahme von Elicitinen auf Eichen eher ausgeschlossen wurde. Es zeigten sich weder optische Veränderungen noch Abweichungen in der (Blatt-) Nettophotosynthese.

Im Falle der *P. alni*-Infektion wird von mir aus diesem Grund die Überlegung der Atmungszunahme junger Zweige durch eine sekundär entstandene Stresssituation favorisiert.

Bezüglich infizierter Erlen und ozonexponierter Bäume zeigen sich weitere Parallelen: Matyssek et al. (2002) berichteten von Zunahmen der Rindengewebsdicken an Stämmen junger Birken nach Ozonexposition. Eine ozoninduzierte Veränderung der Rindengewebe wird von Wittmann et al. (2007) als eine mögliche Begründung für den Anstieg im CO₂-Efflux und in der Photosynthese bei Zweigen betrachtet. Wie oben über die Ozonundurchlässigkeit des Periderms begründet, kann eine strukturelle Veränderung in den Geweben nur indirekt durch Ozon induziert worden sein und muss eine systemische Antwort auf Ozonstress darstellen. Eine entsprechende Reaktion auf *Phytophthora*-induzierten Stress ist auch bei Erlen vorstellbar.

Auch bei den 0-jährigen Erlen Zweigen konnten signifikante Unterschiede in der Rindengewebsdicke von gesunden und infizierten Bäume festgestellt werden (vgl. Tab. 8). Bei den 0-jährigen Zweigen infizierter Bäume war die Rindengewebsdicke im Vergleich zu den Kontrollen signifikant erhöht. Dieser Unterschied zeigte sich tendenziell auch noch bei der Berechnung der relativen Anteile der Rinden am Zweigdurchmesser; allerdings war dieser nicht mehr signifikant, was mit dem etwas größeren Gesamtdurchmesser der Zweige symptomtragender Erlen zusammenhängt (2,25 mm vs. 2,23 mm). Der Anteil chlorenchymatischen, lebenden Gewebes am Achsengewebe lag bei den 0-jährigen Zweigen infizierter Bäume bei 34 %, bei denen symptomloser Bäume nur bei 29 % (Tab. 8). Folglich waren bei den 0-jährigen Zweigen infizierter Bäume auch höhere Atmungsraten feststellbar.

Im Hinblick auf die verhältnismäßig hohen Atmungs- und Photosyntheseraten kann daher zum Teil mit einem gesteigerten Zweigwachstum argumentiert werden.

Diese Überlegung der verstärkten Wachstumsatmung wird im Endeffekt durch die Ergebnisse zum Stammgaswechsel und zur Durchmesserzunahme an den inokulierten Topferlen unterstützt (Kapitel 4.3). Auch in deren Kontext zeigten die Bäume mit dem meisten Durchmesserzuwachs die größten Atmungsraten.

Wie bereits in Kap. 4.3.4 erwähnt, stehen Dunkelatmung und Photosynthese in deutlicher Abhängigkeit zueinander:

Vor allem für die 0-jährigen Zweige konnte zwischen der zweiginternen Rindenphotosynthese und der Dunkelatmung eine lineare Beziehung festgestellt werden (siehe Abb. 41a). Bei den 0-jährigen infizierten Zweigen war die Variabilität in

der Dunkelatmung zu 74 % für die Variation in der Brutto-Photosynthese verantwortlich ($R^2 = 0,744$), bei den nicht infizierten Zweigen lag diese Abhängigkeit bei 88 % ($R^2 = 0,878$).

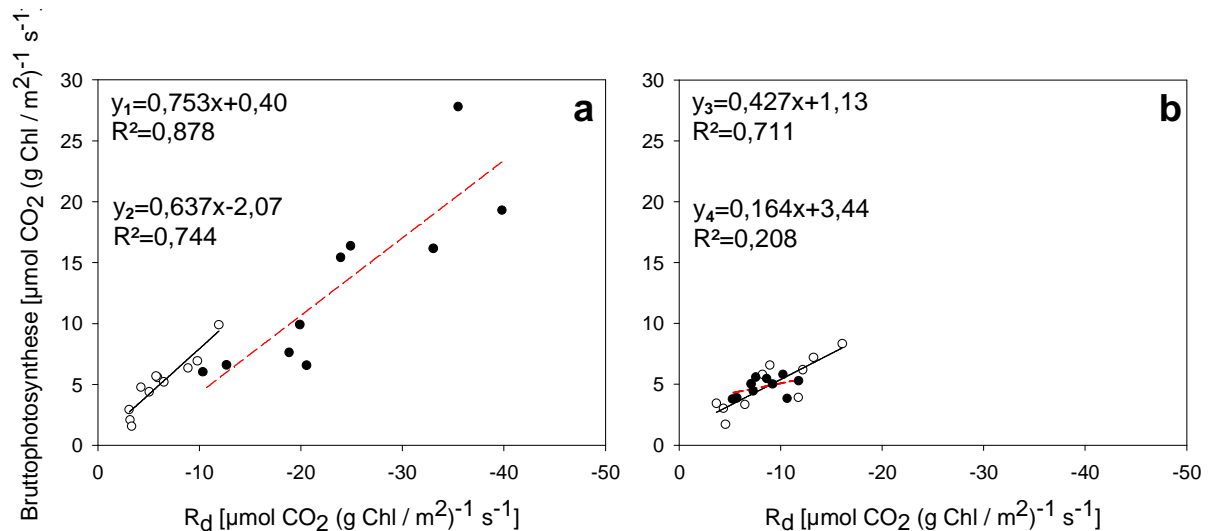


Abb. 41: Zusammenhang zwischen Bruttophotosynthese (Brutto-PS) und Dunkelatmung (R_d) von 0-jährigen Zweigen (a) und 1-jährigen Zweigen (b) optisch gesunder Erlen (weiß mit schwarzer Trendlinie; y_1 und y_3 ; $n = 11$ und $n = 10$) sowie von entsprechenden Zweigen *Phytophthora*-infizierter Erlen (schwarz mit roter Trendlinie; y_2 und y_4 ; $n =$ jeweils 10); dargestellt sind die Einzelwerte der Gruppen, lineare Bezüge sowie das jeweilige Bestimmtheitsmaß

Die Dunkelatmung kann daher im Falle der 0-jährigen als maßgebliche Komponente für die Festlegung der CO_2 -Refixierungseffizienz betrachtet werden. Steinborn et al. beschrieben diese Beziehung 1997 bereits für *Alnus glutinosa*, und auch bei diversen anderen sommergrünen Laubbäumen konnte die Abhängigkeit zwischen Dunkelatmungs- und Refixierungsrate festgestellt werden (Aschan et al. 2001, Berveiller 2007). Weiterhin konnten Steinborn et al. (1997) im Altersvergleich bei Gaswechsellmessungen an der Schwarzerle zeigen, dass vor allem jüngere Äste einen erheblichen Teil ihrer Atmungsverluste durch Rindenphotosynthese ausgleichen können; der Zusammenhang muss daher bei jüngeren Ästen oder Zweigen noch deutlicher zu erkennen sein als bei verhältnismäßig älteren.

Die lineare Abhängigkeit beider Komponenten muss dadurch begründet sein, dass durch die verstärkte Atmung die zweiginternen CO_2 -Konzentrationen ansteigen und die corticulaire Photosynthese dadurch indirekt stimuliert wird. Gleichzeitig wird durch einen Anstieg der CO_2 -Refixierung mehr Substrat zu Metabolisierungszwecken

bereitgestellt, was sich wiederum in einem Anstieg der Atmung niederschlagen würde (Atkin et al. 2000). Auf diesem Hintergrund wäre die gesteigerte photosynthetische Effizienz als Kompensation der aus verstärkter Atmung resultierenden höheren zweiginternen CO₂-Konzentration zu verstehen und hätte somit eine ausgleichende Funktion bezüglich der Kohlenstoffbalance.

Bei den 1-jährigen Achsenorganen war diese Beziehung mit 71 % nur für die nicht infizierten Zweige herzustellen (vgl. 41b), was allerdings an der insgesamt geringen Variationsbreite sowohl innerhalb der Dunkelatemungsraten als auch innerhalb der Photosyntheseraten der beiden Gruppen 1-jähriger lag. Die Raten waren, in Gegenüberstellung zu den Raten der 0-jährigen, verhältnismäßig einheitlich niedrig angelegt, zwischen infizierten und nicht infizierten Achsenorganen gab es im Endeffekt keine Unterschiede.

Bei 1-jährigen Achsenorganen ist das Wachstum nicht mehr im gleichen Maße ausgeprägt wie bei 0-jährigen; bei ihnen geht es vorrangig um sekundäres Dickenwachstum, während 0-jährige noch in ihrer Gesamtheit ausgebildet werden müssen.

4.4.2 Stamm

Der Schwerpunkt der Untersuchungen vegetativer Organe lag deutlich aufseiten der näheren Betrachtung der Stämme *P. alni*-befallener Schwarzerlen als direktem Infektionsort.

Dazu wurde zum einen die Entwicklung einer Infektion über die Dauer von vier Monaten analysiert. Die Untersuchungen zur Infektionsentwicklung begannen im Winter (Februar) und endeten schließlich im Frühling (Mai), nachdem sich der Infektionsbereich viel schneller ausgebreitet hatte als erwartet und der Baum keinerlei Belaubung mehr entwickelt hatte.

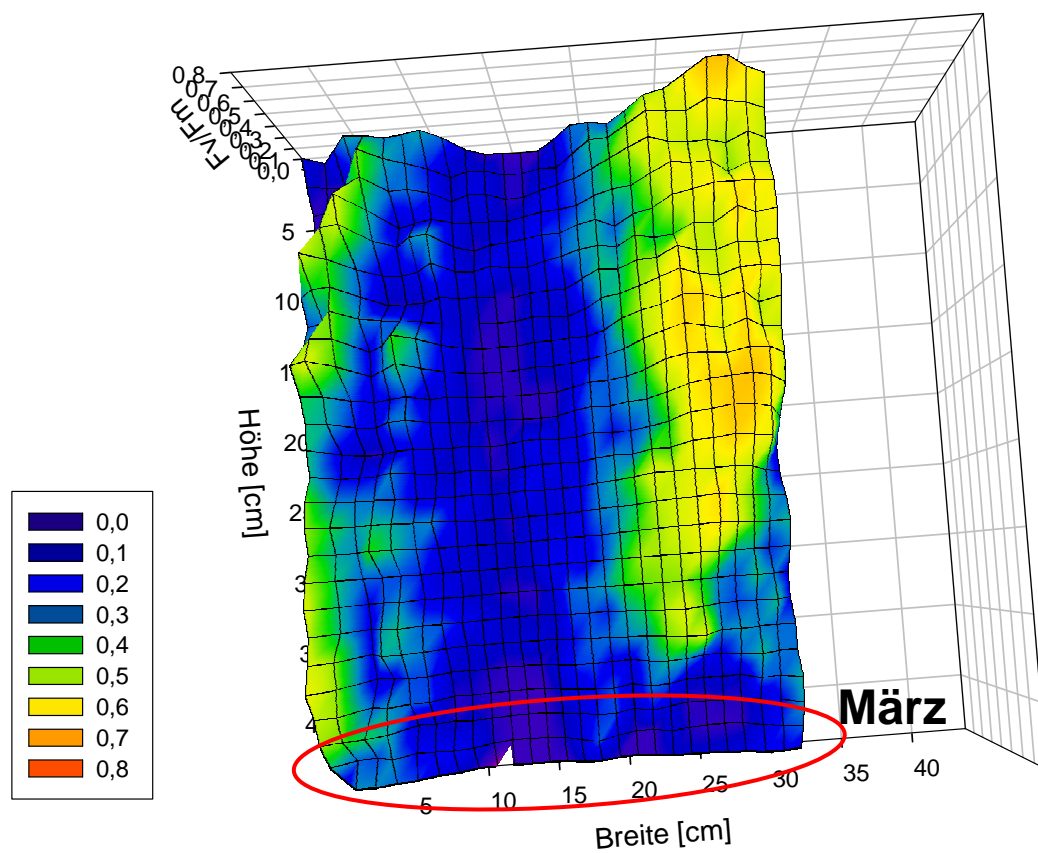
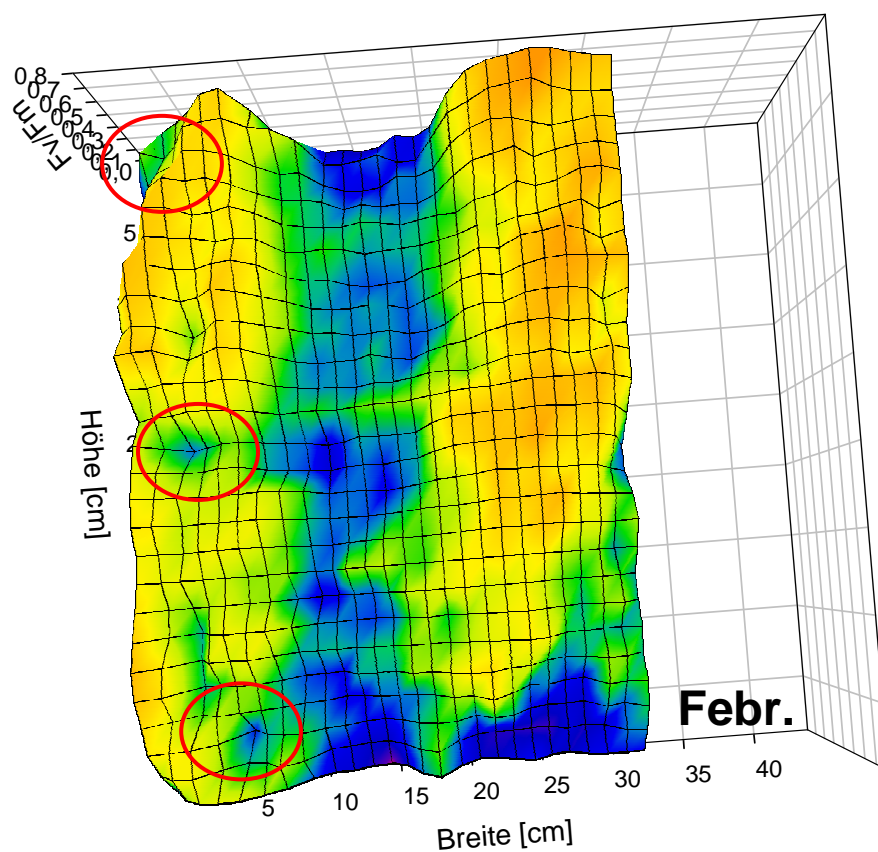
Zum anderen wurde eine Momentaufnahme photosynthetischer Parameter mit dem Ist-Zustand des Rinden- und Holzkörpers des betroffenen Stammes korreliert. Zu diesem Zweck wurde eine der Schwarzerlen, die sich offensichtlich in einem weit fortgeschrittenen Krankheitsstadium befand, gefällt und vor allem im Übergangsbereich von infiziertem zu intaktem Gewebe näher hinsichtlich photosynthetischer Aktivität sowie Rinden- und Holzbeschaffenheit untersucht.

4.4.2.1 Infektionsentwicklung

Innerhalb dieses Zeitraumes wurde die Infektionsentwicklung von *P. alni* im Rindengewebe in dem Sinne indirekt nachvollzogen, als dass sie anhand von maximalen Quantenausbeuten (Fv/Fm) und Absorptionskoeffizienten der betroffenen Flächen bestimmt wurde.

Abb. 42 zeigt die maximalen Quantenausbeuten, die über die gesamte Mantelfläche des ausgewählten Stammabschnitts (siehe Material und Methoden 3.6.7.2) gemessen wurden, anhand von 3D-Plots (Höhe x Breite x Fv/Fm).

Das Messraster wurde im Winter (Februar) zur ersten Messung im Bereich einer Übergangszone von *P. alni*-befallenem und unbelastetem Bast fixiert, wie aus den Messwerten ersichtlich ist: Während im unteren Bereich die Quantenausbeuten schon bei mindestens $\frac{2}{3}$ des Stammumfangs bis auf 0 bis maximal 0,2 gesunken waren, lagen die Fv/Fm-Werte der darüberliegenden Gewebe noch weitgehend zwischen 0,4 und 0,7; lediglich innerhalb eines schmalen Streifens von 5 cm Breite, der sich vertikal über die gesamte Länge des Messbereichs zog, befanden sich stammaufwärts ebenfalls bereits tendenziell stark erniedrigte Werte, die sich nur noch zwischen 0 und 0,4 bewegten. Da der Bereich über den gesamten Messabschnitt durchgehend war, kann angenommen werden, dass sich dieses Areal außerhalb des Messbereichs noch nach oben fortsetzte. Kleinere „Spots“ (rot markiert in Abb. 42, Febr.), die von den Seiten dieses Areals ausgingen, weisen außerdem darauf hin, dass die Ausdehnung auch Ausläufer zu den Seiten beinhaltete.



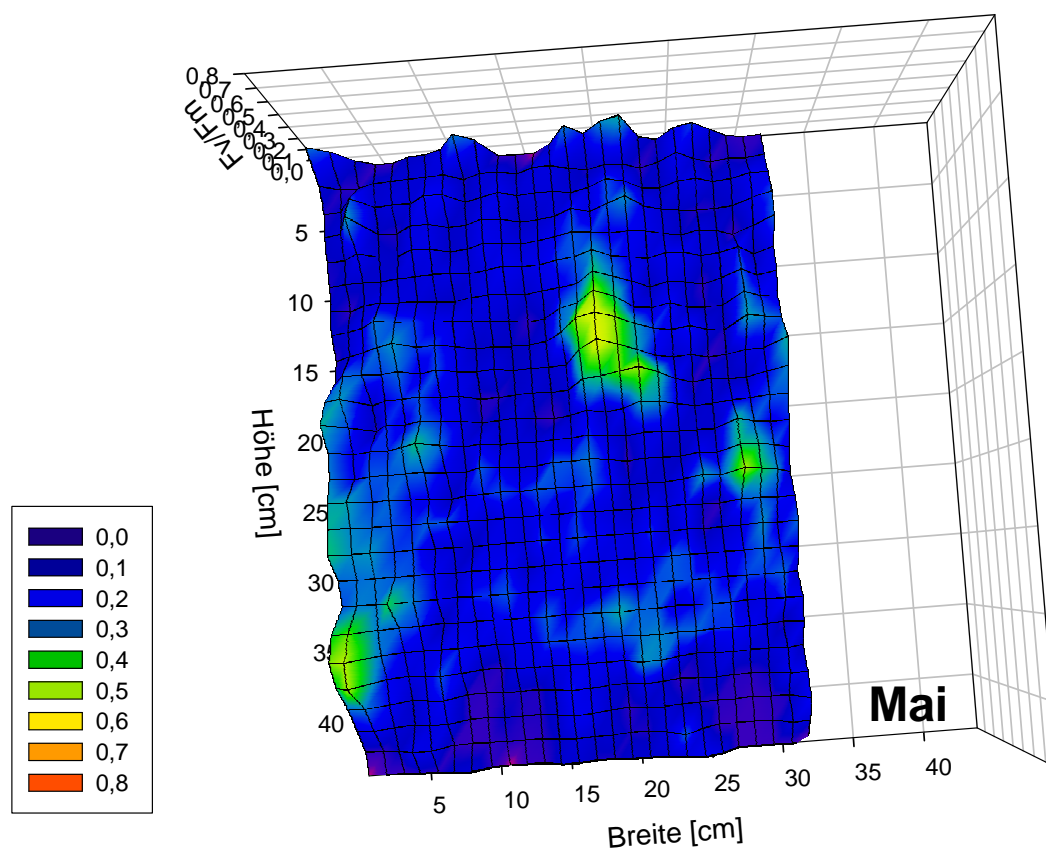
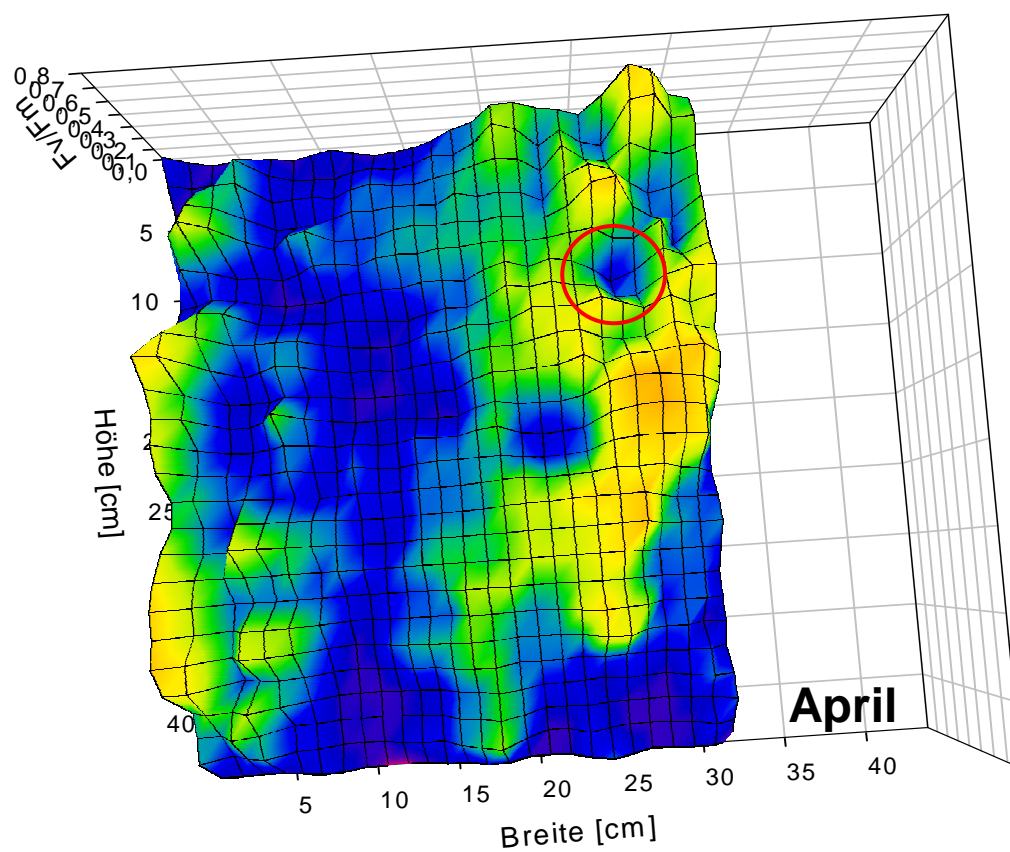


Abb. 42: (siehe vorige Seite) Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (Fv/Fm) in der Übergangszone von *P. alni*-geschädigtem zu unbeeinflusstem Rindengewebe einer Schwarzerle über einen Zeitraum von 4 Monaten; dargestellt sind die Quantenausbeuten der Mantelfläche (44,4 cm Höhe x 32,4 cm Breite) durch Interpolation zwischen den Messergebnissen (n = 999)

Der Februar-Messung nach zu urteilen hatte sich *P. alni* in der Schwarzerle bereits bis auf die Höhe des Messabschnitts (1,45 m bis 1,95 m) durch das Rindengewebe fortbewegt. Zumindest kurz oberhalb von 1,45 m musste der Erreger den Stamm bereits bis zu $\frac{2}{3}$ gegürtelt haben; in diesem Bereich waren die Quantenausbeuten qualitativ am niedrigsten bzw. bewegten sich in der Nähe von Null. Die darüber liegenden Gewebe waren, bis auf das oben erwähnte Areal, vermutlich noch nicht direkt betroffen; die Quantenausbeuten entsprachen dort ungefähr denen gesunder Rindengewebe und lagen zwischen 0,6 und maximal 0,77. Optimumswerte bis 0,8, die man bei gesunden Rindengeweben von Schwarzerlen den Kontrollmessungen nach erwarten kann (vgl. Fv/Fm in Abb. 44), wurden nicht erreicht. Dies kann durch Temperatureffekte begründet sein: In der Woche vor dem Messtermin lagen die mittleren Lufttemperaturen im Durchschnitt lediglich bei 5,3°C, an den zwei Messtagen selbst zwischen 0,8 und 3,9°C. (www.wetter-duelmen.de).

An dem vertikal durchgängigen Bereich mit deprimierter maximaler Quantenausbeute zeichnete sich der weitere Weg des Pathogens durch das gesunde Gewebe ab. Hier lag die Hauptorientierung zwar stammaufwärts, es ließ sich aber parallel eine Orientierung zu den Seiten hin erkennen, was eine Gürtelung des Stammes begünstigen würde.

Durch die sehr engmaschige Messung konnte die bei den jungen Erlen-Topfpflanzen geäußerte Überlegung, dass sich *P. alni* hauptsächlich in den Übergangszonen befindet, untermauert werden: Fast im gesamten Messbereich fand man einen recht klaren Übergang zwischen Flächen maximaler Quantenausbeuten mit „normaler“ Wertigkeit und Bereichen mit extrem niedrigen maximalen Quantenausbeuten, erstere hinweisend auf photosynthetisch noch weitgehend intakte Gewebe, letztere hinweisend auf die bereits ausgeprägte Dysfunktionalität des photosynthetischen Apparates als Konsequenz der Gewebszerstörung. Der Wechsel zwischen diesen beiden Extremen wurde jeweils über sehr schmale Übergangsbereiche mit Werten um 0,3 bis 0,4 eingeleitet. Dieser Bereich stellte die Grenzzonen dar, in denen *P. alni* sich aktiv befand.

Einen Monat später (März) hatte sich der Bereich niedriger maximaler Quantenausbeuten in überraschender Geschwindigkeit ausgedehnt: Der zuvor stammaufwärts ausgerichtete schmale Streifen, dessen Photosyntheseaktivität bereits im Februar verhältnismäßig stark reduziert war, hatte sich auf eine Breite von 15 bis 20 cm ausgeweitet, was bezogen auf die betroffene Fläche eine Einnahme von etwa $\frac{2}{3}$ des Stammabschnitts bedeutet. In diesem Bereich war die maximale Quantenausbeute entweder gar nicht mehr messbar oder lag bei Maximalwerten von 0,2. Das übrige Drittel des Stammes wies hauptsächlich Werte zwischen 0,4 und 0,6 auf. Im Vergleich zum Vormonat fielen folglich auch die Werte, die ursprünglich das unbeeinflusste Rindengewebe repräsentierten, bereits niedriger aus. Im unteren Messbereich, der bereits im Februar nach Interpretation der F_v/F_m -Werte zu $\frac{2}{3}$ gegürtelt schien, konnte im März über den gesamten Stammumfang kaum noch photosynthetisch aktives Gewebe ermittelt werden [siehe Abb. 42 (März), rote Markierung].

Die Ergebnisse zeigen, dass sich das Pathogen innerhalb eines Monats extrem schnell ausgebreitet hatte. Dass auch Bereiche, die offensichtlich noch keiner Besiedelung durch *P. alni* unterworfen waren, von den im Vormonat erreichten Raten nach unten abwichen, kann verschiedene Ursachen haben: Zum einen stehen, wie oben erläutert, die auf Fluoreszenz basierenden Ergebnisse natürlich in Abhängigkeit von Faktoren wie der aktuellen Temperatur zum Messzeitpunkt sowie auch vom mittelfristigen Klima in den vorausgegangenen Wochen (Solhaug und Haugen 1998, Levizou und Manetas 2008, Wittmann und Pfanz 2007). Dieser Aspekt muss auch hier Berücksichtigung finden, ist aber als Ursache für eine Depression der Werte in diesem Ausmaß nicht alleine ausschlaggebend, da sich die Temperaturverhältnisse im Vergleich zum Vormonat mit durchschnittlichen 2°C in der Vorwoche und Temperaturen zwischen 4,4 und 6,8°C an den Messtagen nicht wesentlich unterschieden. Ein Temperatureffekt wird daher im vergleichbaren Maß vorgelegen haben.

Da aber zum anderen im gesamten unteren Messabschnitt kaum noch photosynthetisch aktives Gewebe vorhanden war, was auf eine stammumfassende Gewebszerstörung durch *P. alni* zumindest im Chlorenchym hinweist, ist zu überlegen, ob sich die Gewebsdestruktion nicht auch bis auf Phloembene ausdehnte. Davon ausgehend könnte man eine Unterbrechung des Phloemstroms in Richtung der Wurzeln annehmen sowie daraus resultierende systemische

Konsequenzen. Clemenz (2007) wies anhand von erhöhten Kohlenhydrat-Blattspiegelwerten bei *Alnus glutinosa* auf durch *P. alni* entstandene Unterbrechungen des Phloems hin und zeigte, dass diese Störungen des Phloemstroms offensichtlich zu Assimilatstauungen führen. Die Inhibition der Kohlenstoff-Allokation stammabwärts kann einerseits bedeuten, dass das Wurzelsystem unterversorgt und in seinen Funktionen eingeschränkt wird, was sich sekundär in einer Unterversorgung der Krone mit Wasser und Nährstoffen äußern kann; andererseits kann die Anreicherung von Stärke in photosynthetischen Organen zu einer Endprodukthemmung der Photosynthese führen (Stitt und Schulze 1994). In dem Zeitraum bis März ist zwar nicht mit blattphotosynthetisch erzeugten Assimilaten zu argumentieren, allerdings wird zum einen im Vorjahr die Versorgung der Wurzeln über das Phloem bereits eingeschränkt gewesen sein, zum anderen gilt die Inhibition der Kohlenstoff-Allokation ebenso für rindenphotosynthetisch erzeugte Assimilate. Es ist daher nicht ausgeschlossen, dass auch Bastgewebe, das noch keinem unmittelbaren Kontakt zum Erreger hatte, in einem fortgeschrittenen Stadium der Infektion bereits mangelversorgt ist, sei es durch fehlende Assimilate oder Nährstoffe. Eine stetig abnehmende Vitalität der Stammgewebe könnte eine rasante Ausdehnung des Pathogens innerhalb eines Monats erklären.

Im weiteren Verlauf des Frühjahrs (April) setzten sich die Entwicklungstendenzen des Vormonats weiter fort. Die Markierung in Abb. 42 (April) weist auf Spots photosynthetischer Inaktivität hin, die sich in den vorher weitgehend noch photosynthetisch aktiven Arealen ausbildeten. Sie können als Indiz für die fortschreitende Zerstörung des Bastes von den Seiten her gewertet werden. Wie die Abbildung zeigt, standen diese Spots immer in Verbindung zu größeren Flächen mit reduzierter photosynthetischer Aktivität. Demnach muss sich das Pathogen immer an der Stammoberfläche bzw. in der Rinde fortbewegt haben, da bei einer anderen Wegführung keine Auswirkung auf die Rindenphotosynthese festzustellen gewesen wäre. Anders als bei Brown und Brasier (2007) konnte im Falle von *P. alni* daher nicht auf Bildungen von Inseln im eigentlichen, isolierten Sinne wie bei anderen Arten der Gattung *Phytophthora* rückgeschlossen werden. Sie beschrieben die Ausbreitung verschiedener *Phytophthora*-Arten, unter anderem auch von *P. cambivora*, nicht nur durch Kambium und Bast, sondern ebenfalls durch das Xylem. Kleine

Phloemläsionen (Inseln) waren demnach oft durch darunter liegende Holzbereiche in Linie mit den Holzfasern miteinander verbunden.

Es wurde angenommen, dass sich die jeweiligen Erreger auch innerhalb des Xylems ausbreiten können; auf diesem Weg kommt es wahrscheinlich zur Initiierung neuer Phloemläsionen von innen nach außen sowie zusätzlich zu lokalen Störungen der Xylemfunktionen.

Beim Vergleich der Ergebnisse von März und April zeigte sich in einigen Bereichen trotz der ansonsten angenommenen weiteren Zersetzung des Gewebes durch *P. alni* eine leichte Erhöhung der maximalen Quantenausbeuten vor allem in den Übergangszonen, so dass Abschnitte, deren Photosynthesepotential zuvor laut Messung nicht mehr vorhanden war, wieder Werte zwischen 0,3 und 0,4 aufwiesen (vgl. Abb. 42, März und April). Dieses Phänomen lässt sich in diesem Zusammenhang nur über die höhere Temperatur im Gegensatz zu den Temperaturen der Vormonate erklären, die sehr niedrig waren und daher durchaus hemmend auf die Rindephotosynthese gewirkt haben können. Während die Temperatur in der Woche vor der März-Messung im Durchschnitt bei 2 °C lag und an den Messterminen zwischen 4,4 und 6,8 °C, lagen die Vergleichswerte im April bereits bei 11,5 °C in der Vorwoche und am Messtermin im Durchschnitt zwischen 11,9 und 13,6 °C. Eine partielle Regeneration der Gewebe in den Übergangszonen ist bei der offensichtlich aggressiven Ausbreitung von *P. alni* unwahrscheinlich; die nun wieder messbar aktiven Gewebe müssen im Vormonat lediglich kältebedingt gehemmt, aber noch nicht vollkommen durch *P. alni* zerstört gewesen sein. Trotz eines möglichen inhibierenden Temperatureinflusses im März, der die Einflussnahme durch *Phytophthora* zu diesem Zeitpunkt teilweise überspitzter dargestellt haben mag, als sie tatsächlich war, setzte sich die Tendenz der weiteren Gewebeerstörung deutlich fort.

Im letzten Frühlingsmonat (Mai) war zuletzt kaum noch photosynthetisches Potential am Stammabschnitt messbar; bis auf wenige kleine Inseln mit maximalen Quantenausbeuten zwischen 0,4 und 0,6 konnten über den übrigen Stamm lediglich Werte zwischen 0 und höchstens 0,2 gemessen werden.

Die Untersuchungen wurden ab Mai eingestellt, da die Schwarzerle zu diesem Zeitpunkt durch *P. alni* nun eindeutig in vollem Umfang gegürtelt war und keine Veränderungen bezüglich der Messergebnisse mehr zu erwarten waren.

Falls innerhalb des Messzeitraumes überhaupt noch eine durchgehende Verbindung des Phloems von der Krone bis zur Wurzel existiert hat, muss die komplette Ummantelung durch das Pathogen zumindest relativ zeitnah stattgefunden haben. Schumacher et al. (2005) stellten im Rahmen von Inokulationsversuchen an Stämmen 3-jähriger Erlen einen deutlichen exponentiellen Zusammenhang ($r^2 = 0,96$) zwischen dem Anteil stammungsgreifender Nekrosen und der Mortalitätsrate der Versuchspflanzen her. Die Wirtspflanzen können demnach nach der Unterbindung des abwärts gerichteten Saftflusses im Phloem im längsten Fall noch bis zum Verbrauch ihrer Reservestoffe überleben. Die extrem rasche Ausdehnung von *P. alni*, die anhand der Veränderungen von Fv/Fm mitverfolgt werden konnte, ist ein Hinweis darauf, dass der betroffenen Erle keine Ressourcen mehr zur Verfügung standen und sie dem Pathogen schließlich nichts mehr entgegensetzen hatte. Die sich einstellende Blattlosigkeit unterstrich schließlich den Status des absterbenden beziehungsweise abgestorbenen Baumes.

Die Ausbreitungsdynamik steht dabei in keinem Verhältnis zu der geringen Dynamik, die an den *P. alni*-inokulierten Jungerlen beobachtet wurde. Dies spricht jedoch für das seltenere Auftreten von jungen kranken Schwarzerlen im Freiland (vgl. Kapitel 4.3).

Maximale Quantenausbeute und Absorption

Neben der Ermittlung von Fv/Fm wurde an ausgewählter Stelle (Übergangszone; die Positionierung auf der Gesamtmantelfläche wird anhand Abb. 43 „Position“, deutlich) in den Monaten März bis Mai die Absorption erfasst und den zugehörigen maximalen Quantenausbeuten gegenübergestellt (Abb. 43). Dies geschah sowohl optisch über Absorptions- und Fv/Fm-Visualisierungen als auch über regressionsanalytische Berechnung.

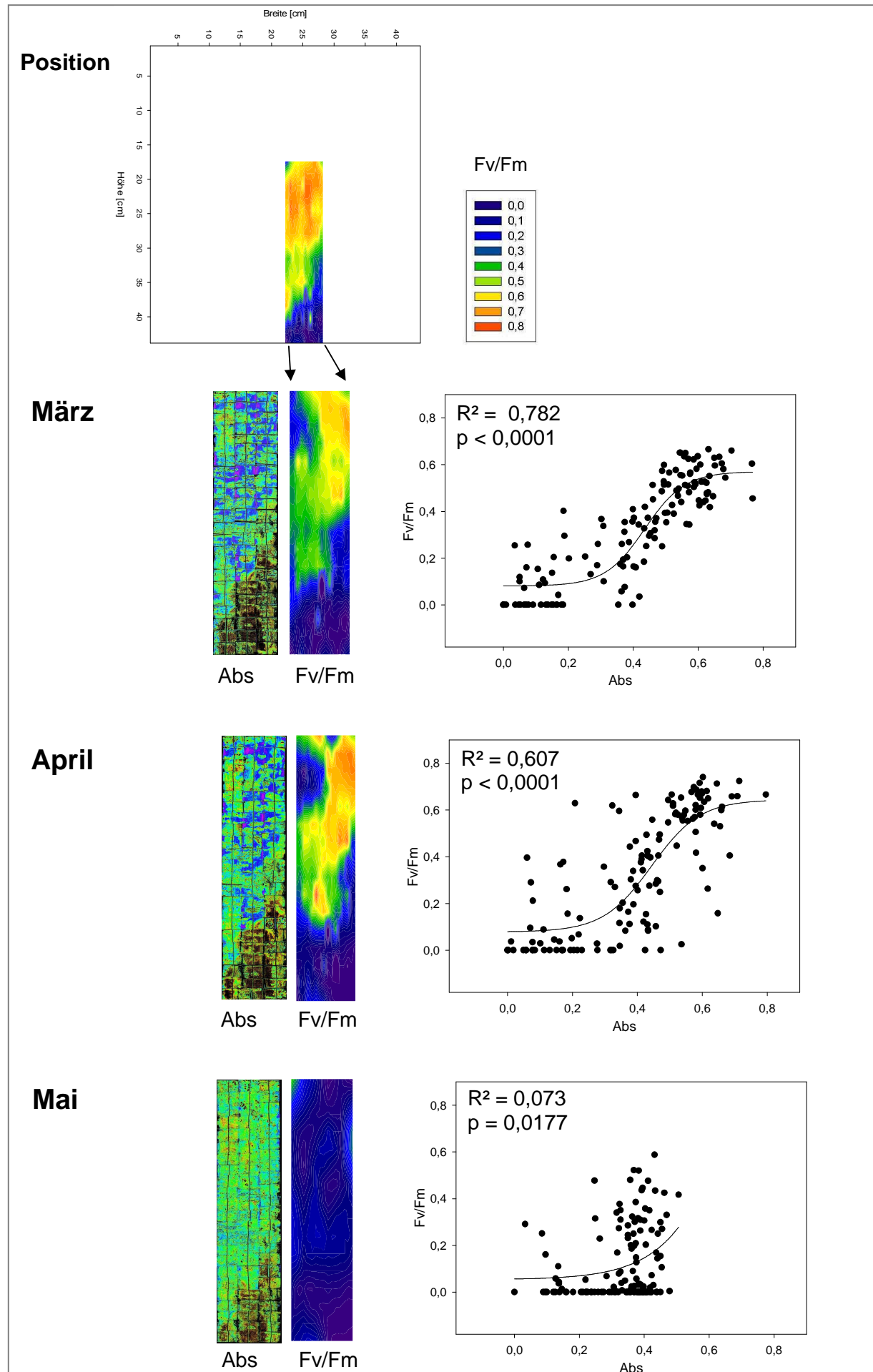


Abb. 43: (siehe vorige Seite) Entwicklung der maximalen Quantenausbeuten (F_v/F_m) sowie der zugeordneten Absorption (Abs) in einem ausgewählten Abschnitt der in Abb. 42 dargestellten Übergangszone über einen Zeitraum von 3 Monaten (März bis Mai); parallel zur Darstellung der Parameter durch bildgebende Verfahren ist die Korrelation von F_v/F_m und Abs angeführt

Im März zeigte sich eine deutliche Abhängigkeit zwischen den maximalen Quantenausbeuten und der zugehörigen Absorption der entsprechenden Gewebe. Bereits beim Vergleich der Abbildungen beider Parameter lassen sich Zusammenhänge erkennen (Abb. 43, März). Wo im unteren Messbereich keine photosynthetische Aktivität mehr messbar war, lag auch die Absorption bei bis zu 0 %. In diesen Bereichen muss, wie oben bereits angedeutet, Rindengewebe schon in dem Maße nekrotisch gewesen sein, dass die absorbierenden Pigmente weitgehend abgebaut waren.

In den photosynthetisch aktiven Bereichen lag auch die Absorption entsprechend höher. Beide Parameter präsentierten sich hier in einem relativ breiten Spektrum: F_v/F_m bewegte sich zwischen 0,3 und 0,67, die Absorption zwischen 37 und 77 %. Die Heterogenität beider Parameter ist ein Hinweis darauf, dass dieses Gewebe nicht mehr intakt gewesen sein kann, sondern bereits durch *P. alni* negativ beeinflusst gewesen sein muss. Im Vergleich dazu ergab die Kontrollmessung maximale Quantenausbeuten zwischen 0,7 und 0,8 und eine Absorption zwischen 50 und 75 %. Das nicht durch *P. alni* belastete Rindengewebe war, abgesehen von insgesamt höheren Werten, wesentlich homogener (vgl. Abb. 44).

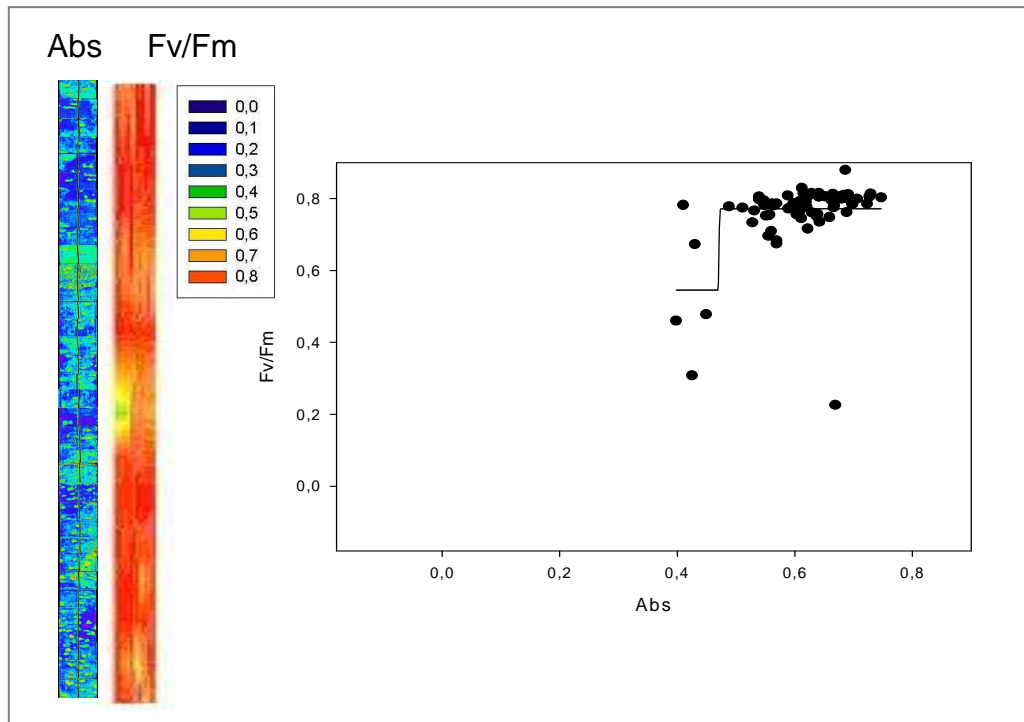


Abb. 44: Maximale Quantenausbeuten (F_v/F_m) sowie die zugehörige Absorption (Abs) in einem Kontrollbereich, gemessen bei 20°C Lufttemperatur; parallel zur Darstellung der Parameter durch bildgebende Verfahren ist die Korrelation von F_v/F_m und Abs abgebildet

Bei der Korrelation von F_v/F_m und der Absorption konnte eine signifikante sigmoidale Abhängigkeit der beiden Parameter festgestellt werden. Aus der Zuordnung in der Grafik wird ersichtlich, dass im Bereich der maximal gemessenen Absorption auch F_v/F_m relativ hoch war. In diesem plateauähnlichen Bereich konnte zwischen F_v/F_m und der Absorption keine direkte Abhängigkeit erkannt werden. Die Varianz in der Absorption hatte in dieser Höhe demnach keine bemerkenswerten Auswirkungen auf die Photosynthese. Nach Nishio (2000) wird bei einer für ausdifferenzierte Blätter angenommenen Absorption von 85 % vier bis fünf Mal mehr Licht absorbiert, als für die Photosynthese benötigt wird. Es kann daher angenommen werden, dass bei einer Reduktion des Absorptionsvermögens, bedingt durch Pigmentabbau oder -mangel, bis zu einem gewissen Grad immer noch genügend Lichtenergie zu photosynthetischen Zwecken zur Verfügung gestanden hat und F_v/F_m aus diesem Grund zunächst nicht parallel zur Absorption herabgesetzt werden musste.

Mit dem Überschreiten eines kritischen Punktes in der Absorption, hier ungefähr gelegen bei $< 0,6$ (60 %), begann F_v/F_m ebenfalls kontinuierlich abzusinken. Die an

dieser Stelle eintretende lineare Abhängigkeit von F_v/F_m zur Absorption ist klar zu erkennen. Es konnte demnach nicht mehr genügend Licht absorbiert werden, um die Photosynthese im ausreichenden Maße aufrechtzuerhalten und anzutreiben; ab dieser Schwellenüberschreitung stand die Reduktion des Photosynthesepotentials in direktem Zusammenhang zur sinkenden Absorptionsfähigkeit.

Die Reduktion der Absorption wird als Folge eines fortschreitenden Pigmentabbaus durch *P. alni* im Zuge von Zellschädigungen angenommen; die sinkende Absorption steht in diesem Zusammenhang daher nicht nur für den limitierenden Faktor Licht, sondern ist im Endeffekt auch Indikator für die fortschreitende Zerstörung der Zellen inklusive des Chlorophyllabbaus.

Ab einer Absorption von ungefähr $< 20\%$ war größtenteils keine Photosyntheseaktivität ($F_v/F_m = 0$) mehr messbar; ab diesem zweiten kritischen Schwellenwert war das Photosynthesepotential, unabhängig vom noch existierenden Absorptionsvermögen, im Endeffekt komplett eingebrochen.

Die in diesem Bereich noch messbare Absorption ergab sich aus der Tatsache, dass Lichtabsorption der Pigmente auch dann noch möglich ist, wenn andere Elemente des Photosynthese-Apparates schon massiv angegriffen sind. Es muss lediglich die Existenz der Pigmente in der Rinde gegeben sein. Deren Anwesenheit ist nicht zwingend an die Funktionalität von Photosystemen gekoppelt.

Auf der anderen Seite ist bei einer Absorption von 0% F_v/F_m grundsätzlich nicht mehr messbar. Dies ergibt sich aus der Konsequenz, dass ohne absorbiertes Licht (als Folge von maximalem Chlorophyllabbau) zum einen Fluoreszenz (F) *per se* nicht möglich und somit alleine als Berechnungsfaktor ausgeschaltet ist. Zum anderen müssen zu einem Zeitpunkt vollständigen Pigmentverlustes die Zellstrukturen schon so geschädigt sein, dass Photosynthese-Komplexe definitiv nicht mehr im funktionsfähigen Zustand vorliegen können.

Der zuletzt vollständige Einbruch der Photosynthese bei noch vorhandener Absorption unterstreicht die nur partielle Abhängigkeit der Aktivität der Photosysteme vom Absorptionsvermögen. Gerade im Bereich nahezu fehlender Fluoreszenz wird deutlich, dass F_v/F_m noch von weiteren Faktoren abhängig ist. Zur Diskussion steht in diesem Zusammenhang vor allem die Hemmung der Photosynthese durch phytotoxische Stoffe. Bei allen bislang untersuchten Arten der Gattung *Phytophthora*,

inklusive *P. alni*, konnte die Bildung von Elicitinen festgestellt werden (Erwin und Ribeiro 1996, Ioss et al. 2007). Diese Proteine (< 10.000 Da), die vermutlich während des Pathogenwachstums in umliegende Gewebe abgegeben werden, werden als phytotoxisch eingestuft (Brummer et al. 2002, Oßwald 2004). Milat et al. (1991) sowie Heiser et al. (1999) konnten die Zerstörung von Chloroplasten und deren Membranen durch Elicitine in Tabakblättern zeigen. Bei Milat et al. (1991) führte weiterhin eine Behandlung von Tabakblättern mit Cryptogein, einem Elicitin von *P. cryptogea*, zu einem deutlichen Abfall der maximalen Fluoreszenz in den Blättern, ein Indiz für den Verlust der Effizienz des PS II. Dies war gekoppelt an eine Veränderung der Grana-Stapelung. Fleischmann et al. (2005) zeigten allerdings im Gegenzug dazu, dass das Elicitin von *P. citricola*, was bei Tabakblättern zu Nekrosen und Einbußen im Gaswechsel führte, bei Buchen nicht an der, ebenfalls durch *P. citricola* bedingten, systemischen Symptomausbildung beteiligt war. Wesentliche Unterschiede zeigten sich zudem in Abhängigkeit vom experimentellen Ansatz: Während auf der einen Seite Infektionen mit Zellkulturen zur Nekrotisierung der Gewebe führten (Blein et al. 1991, Dubery et al. 1994), zeigten Mornau und Treuter (2003) auf der anderen Seite, dass bei intakten Rindengewebe von *Malus domestica* nach Infiltration mit Kulturfiltraten von *P. citricola* kein Zelltod induziert werden konnte, was vermutlich an zu geringen Elicitinkonzentrationen in den Filtraten lag.

Da die Fluoreszenz-Messungen aber in nächster Nähe zu *P. alni* am Rindengewebe durchgeführt wurden, sollten die Elicitine von *P. alni* zumindest als lokal wirkende Phytotoxine nicht außer Acht gelassen werden. Hinzu kommt, dass die meisten Untersuchungen zur Wirkung von Elicitinen bisher in erster Linie auf Ebene der Blätter stattfanden (Churngchow und Rattarasarn 2000, Fleischmann et al. 2005, Milat et al. 1991).

Letztlich können daher zu diesem Zeitpunkt nur Vermutungen darüber geäußert werden, welche Wirkung *P. alni* und/oder von *P. alni* abgesonderte Substanzen auf pflanzliche Gewebe haben.

In den Aprilproben finden die zuvor getroffenen Annahmen Bestätigung (Abb. 43, April):

Die, hier vorausgesetzte, fortschreitende Ausdehnung des Pathogens in der Rinde schlug sich in einer weiteren Zunahme der Flächen, in denen kein

photosynthetisches Potential mehr messbar war ($F_v/F_m < 0,1$), nieder. Dem gegenüber stand in diesen offensichtlich betroffenen Arealen eine Absorption, die zwischen 0 und 50 % lag.

Die Abhängigkeit von F_v/F_m zur Absorption nahm in diesem durch Streuung der Werte charakterisierten Bereich entsprechend ab ($R^2 = 0,61$).

Im Mai fehlte im ausgewählten Abschnitt das Photosynthesepotential schließlich weitgehend ($F_v/F_m < 0,3$), eine Abhängigkeit der Photosynthesefähigkeit zur Absorption war nicht mehr zu erkennen ($R^2 = 0,07$). Letztere bewegte sich zwar immer noch zwischen 0 und 50 %, aber es existierten diesmal fast keine Absorptionswerte > 50 %, was die Abbildung der Absorption von Mai (vgl. Abb. 43, Mai) erstmals deutlich von den vorausgegangenen unterscheidet. Der Abbau von Pigmenten war demnach innerhalb des vorausgegangenen Monats erkennbar fortgeschritten.

Es lässt sich zusammenfassen, dass im Rahmen einer Infektion mit *P. alni* der Verlust des Absorptionsvermögens der Rinde zunächst dem Verlust der Photosynthese vorangeht. Bei Überschreiten eines kritischen Wertes kommt es dann allerdings deutlich drastischer zur Reduktion der Photosynthese als zur Reduktion der Absorption. Zuletzt kommt es zur vollständigen Einbuße der Photosynthesefähigkeit, ungeachtet des noch vorliegenden Absorptionsvermögens. Neben mechanischer Gewebeerstörung durch das Wachstum des Oomyzeten kann ein Einbruch der Photosynthese durch Toxine nicht ausgeschlossen werden.

Maximale Quantenausbeuten und Rindentemperatur

Abb. 45 zeigt zuletzt die im Rahmen dieses Projekts erfassten Temperaturen an der Rindenoberfläche der Schwarzerle in Nord- und Südausrichtung. Dem gegenübergestellt wurden die Auswertungen der im entsprechenden Zeitraum ermittelten F_v/F_m -Werte.

Auf der Südseite des Baumes waren die Temperaturen auf der Rindenoberfläche zu allen drei Messterminen deutlich höher als auf der Nordseite ($p < 0,001$). So lagen die gemittelten Temperaturen der Tagesgänge im März bei 9,2°C (Nord) und 12,3°C (Süd), im April bei 6,6°C (N) und 15,9°C (S) und im Mai bei 16,2°C (N) und 23,3°C (S).

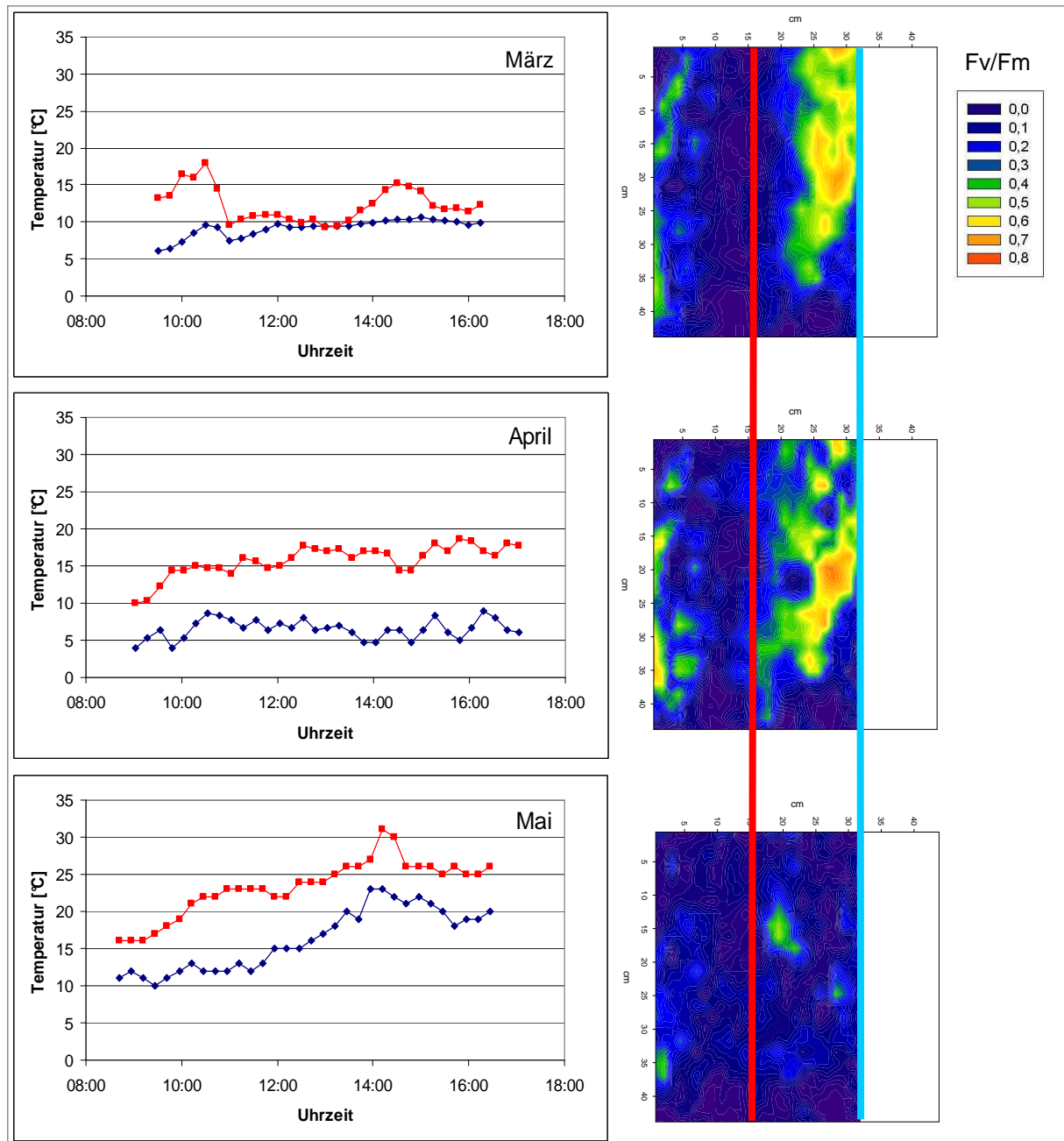


Abb. 45: Gegenüberstellung der Temperaturentwicklung auf der Nord-(blau)- und Süd-(rot)-front der Erle (dargestellt an einzelnen Tagesgängen parallel ermittelt zu den chlorophyllfluoreszenzanalytischen Untersuchungen) und den zugehörigen lokalen maximalen Quantenausbeuten in den Monaten März bis Mai

An den Fv/Fm-Images mit Nord / Süd-Kennzeichnung zeigt sich, dass die durch *P. alni* initiierte Infektionszunge sich zunächst auf der Südfront des Stammes hinaufzog. Die Nordfront der Schwarzerle war in diesem Stammausschnitt als letztes betroffen. Nach Untersuchungen von Clemenz (2007) liegen die Maximum-, Optimum- und Minimumtemperaturen des Kulturwachstums von *P. alni* (subsp. *alni*) in vitro bei 32°C, 25°C und 5°C.

Ausgehend von diesem Maßstab waren die Wachstumsbedingungen für *P. alni* auf der Südseite der Erle zu allen Zeitpunkten vorteilhafter und erreichten im Mai annähernd ein Optimum. Entsprechend zeichnete sich parallel zu einem Temperaturgradienten zwischen Nord- und Südfront auch ein Wachstumsgradient ab. Die Gegenüberstellung von Rindentemperatur und maximalen Quantenausbeuten lässt daher die Hypothese zu, dass an den sonnenexponierten Seiten der Bäume, setzt man eine daran gekoppelte höhere Temperatur voraus, das Wachstum von *P. alni* in stärkerem Maße gefördert wird als an den beschatteten Stammabschnitten.

Auf der anderen Seite lagen die ermittelten Temperaturen der Rindenoberfläche auch auf der Nordseite nur selten unter der Minimumstemperatur von 5°C. Pathogenwachstum wurde daher vermutlich temperaturbedingt auch auf dieser Seite nie vollständig unterbunden.

In Labortests zur Frostsensitivität von *P. alni* konnten Schumacher et al. (2006) sogar beobachten, dass Isolate des Erregers zumindest eine Frostdauer von 30 Tagen bei 0°C zu 100 % überlebten. Erst bei einer Temperatur von -5°C kam es innerhalb von 30 Tagen Frostdauer zu einem Absterben. Im Hinblick auf die immer milder werdenden Winter sind so lange Perioden andauernden Frosts immer seltener zu erwarten. Daher kann auch der Beobachtung von Schumacher, dass in den Monaten Dezember bis März die Entwicklung von *P. alni* weitgehend unterbunden ist und sich Läsionen nach dieser Kälteperiode im Verlauf des Folgejahres meistens nicht mehr ausdehnen, teilweise widersprochen werden: Die Entwicklungsdynamik, die *P. alni* im Rahmen dieser Untersuchung bereits gegen Ende der vermeintlichen Kälteperiode (Februar und März) zeigte, skizziert unter Umständen eine temperaturbedingte Veränderung der Pathogenese, die zu einem beschleunigten Absterben von Schwarzerlen führen könnte.

Clemenz (2007) hat im Rahmen seiner Infektionsversuche an Jungerlen allerdings keinen direkten Zusammenhang zwischen der Rindenoberflächentemperatur und dem Wachstum von *P. alni* feststellen können, was daran gelegen haben mag, dass seine online-Temperaturmessungen an der Rindenoberfläche zwischen Mai bis Oktober durchgeführt wurden und sich die Tagesmittelwerte in dieser Jahreszeit immer zwischen dem Optimum- und Minimum des Kulturwachstums bewegten. Diese waren demnach dem Wachstum des Pathogens durchgängig zuträglich, so

dass auch keine großen Unterschiede im Wachstumsverhalten des Pathogens in Abhängigkeit zur Temperatur zu erwarten waren. Allerdings entwickelten sich die Stammläsionen trotz dessen in den einzelnen Monaten sehr unregelmäßig.

Dazu ist anzumerken, dass in seinen Studien kein identisches Pflanzenmaterial zu Versuchszwecken genutzt wurde. Auch für die Inokulationsversuche dieser Arbeit wurde kein geklontes Material verwendet (siehe 3.3), so dass sich auch hier bei den Jungerlen trotz gleicher Rahmenbedingungen ein sehr unterschiedliches Wachstum der Infektionszungen zeigte (vgl. 4.3.2). Entsprechend wären Folgeuntersuchungen zur Temperaturabhängigkeit des Kulturwachstums von *P. alni in vivo* zukünftig an identischem Pflanzenmaterial vorzuziehen oder, wie hier in Ansätzen beschrieben, durch eine repräsentativere Analyse zu Temperatur- und Wachstumsgradienten an Stämmen im Nord-/Südvergleich.

4.4.2.2 Auswirkungen einer *P. alni*-Infektion auf Bast und Holz

Zusätzlich zur Infektionsdynamik des Pathogens in der Rinde wurde der Ist-Zustand des Bast- und Holzgewebes einer weiteren infizierten Schwarzerle ergänzend untersucht. Im Vordergrund stand dabei wiederum der Übergangsbereich zwischen Infektionszunge und intaktem Gewebe, wobei auch der übrige Stamm Berücksichtigung fand. Zu diesem Zweck wurde eine Schwarzerle im August 2008 gefällt (Abb. 46).



Abb. 46: Fällung einer Schwarzerle im fortgeschrittenen Krankheitsstadium

Der ausgewählte Baum zeigte zum Zeitpunkt der Fällung ein bereits deutlich fortgeschrittenes Krankheitsstadium, was sich unter anderem durch Schleimflussflecken am Stamm in einer Höhe von 2 m äußerte, sowie durch eine nur noch aus wenigen kleinen Blättern bestehende Belaubung, die sich auf einen Zweig reduzierte. Im Anschluss an die Fällung konnte der Krankheitsverlauf bis zu einem gewissen Grad nachvollzogen werden: Anhand der Zählung der Jahresringe am Stammfuß (Abb. 47) wurde das Alter des infizierten Baumes auf 14 Jahre festgelegt. Bis zum elften Jahresring waren keine Abweichungen beim Wachstum feststellbar; bis dahin war die Schwarzerle noch nicht durch *P. alni* infiziert bzw. zeigte sich bis dahin zumindest noch keine offensichtlicher Befall. Erst im elften Jahr muss ein massiver Angriff auf das Rindengewebe stattgefunden haben: Im linken Abschnitt der Abbildung ist das Rindengewebe nach dem elften Jahresring komplett abgestorben. Ab diesem Zeitpunkt sind auf der gegenüberliegenden Seite mehrfach Überwallungsvorgänge zu erkennen, die zumindest bis zum 14. Jahr abschnittsweise erfolgreich waren. Das rasche Absterben innerhalb von drei Jahren deckt sich mit den Beobachtungen von Jung und Blaschke (2001). Lange Phasen des Absterbens

bis zu acht Jahren wurden nur in flussfernen Gebieten in Abhängigkeit vom Bodenwasserhaushalt konstatiert.

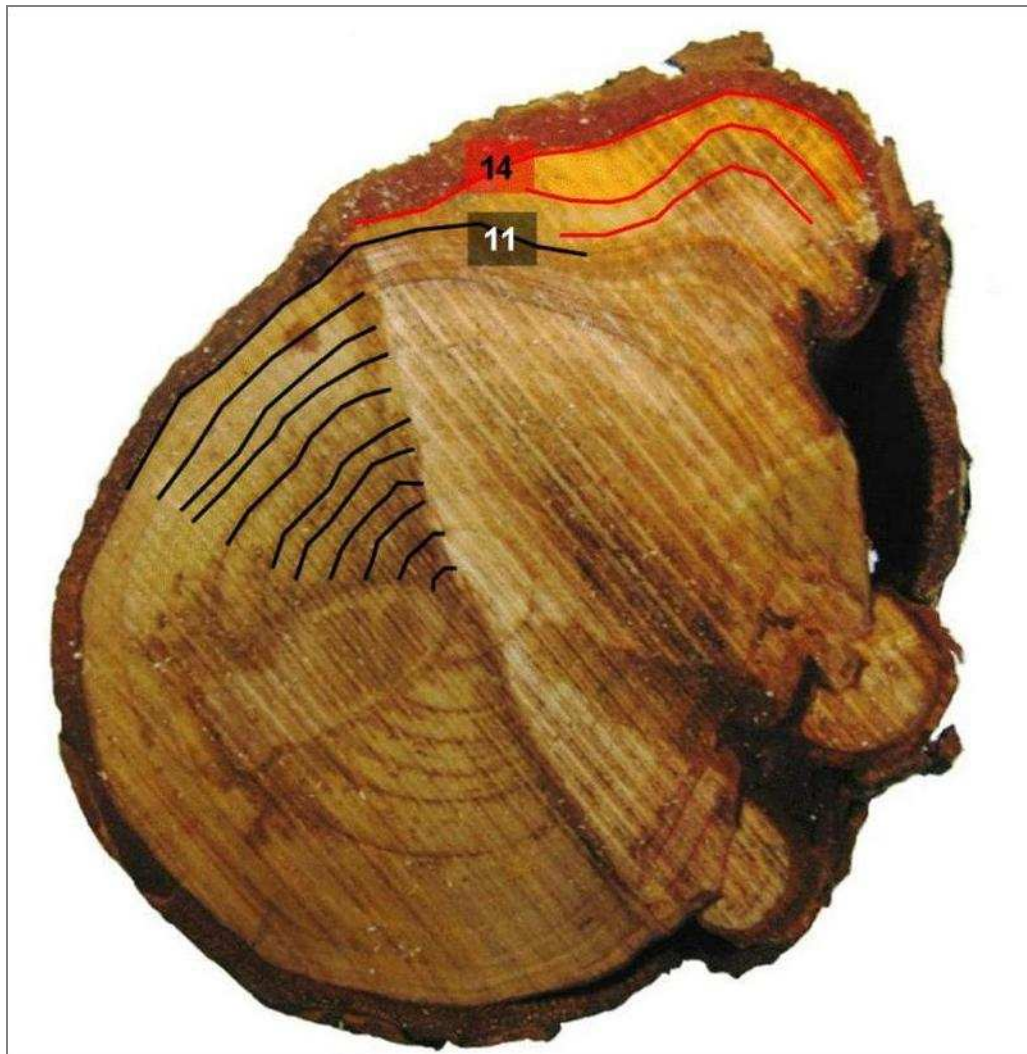


Abb. 47: Festlegung des Baumalters und des Infektionszeitpunktes anhand des Stammfußes der gefällten Erle; schwarze Linien markieren den Zeitraum bis zur Infektion mit *P. alni*, rote Linien den Infektionszeitraum

Zum Zeitpunkt der Fällung waren nur noch 18 cm des gesamten Rindenumfangs am Stammfuß (62 cm) annähernd intakt, was etwa 29 % des Stammfußumfangs entspricht. Die lebenden Rindenbereiche wurden anhand der deutlichen Oxidationsfärbung, die durch die Reaktion von Phenolen mit Sauerstoff entstand, als solche festgelegt. Die Zusammensetzung der Rindeninhaltsstoffe ist bei Schwarzerlen zwar in Abhängigkeit vom Standort variabel, der Gerbstoffgehalt ist aber in der Regel sehr hoch angesetzt, die Tannin-Gehalte können teilweise bis zu 20% der Cortex-Inhaltsstoffe betragen (Lagoni 2003).

Ergänzend zu den Untersuchungen zur Infektionsdynamik (Kapitel 4.4.2.1) ist an dieser Stelle festzuhalten, dass ungefähr drei Jahre ausreichend sein können, um eine Schwarzerle dieses Alters nahezu absterben zu lassen. Die überraschend rapide Infektionsausbreitung in der Rinde, die über vier Monate ermittelt wurde, erscheint auf diesem Hintergrund betrachtet nachvollziehbar.

Aus den Fluoreszenzmessungen in der Übergangszone ergab sich nach deren Visualisierung das Bild einer klar abgegrenzten Infektionszunge (vgl. Abb. 48), wie sie bisher nach mechanischer Entfernung der Borke demonstriert werden konnte (Jung und Blaschke 2001, Clemenz 2007).

Innerhalb der Zunge lag F_v/F_m bei 0, in einer schmalen Übergangszone zwischen 0,1 und 0,5 und im Gewebe außerhalb der Zunge bei $> 0,7$.

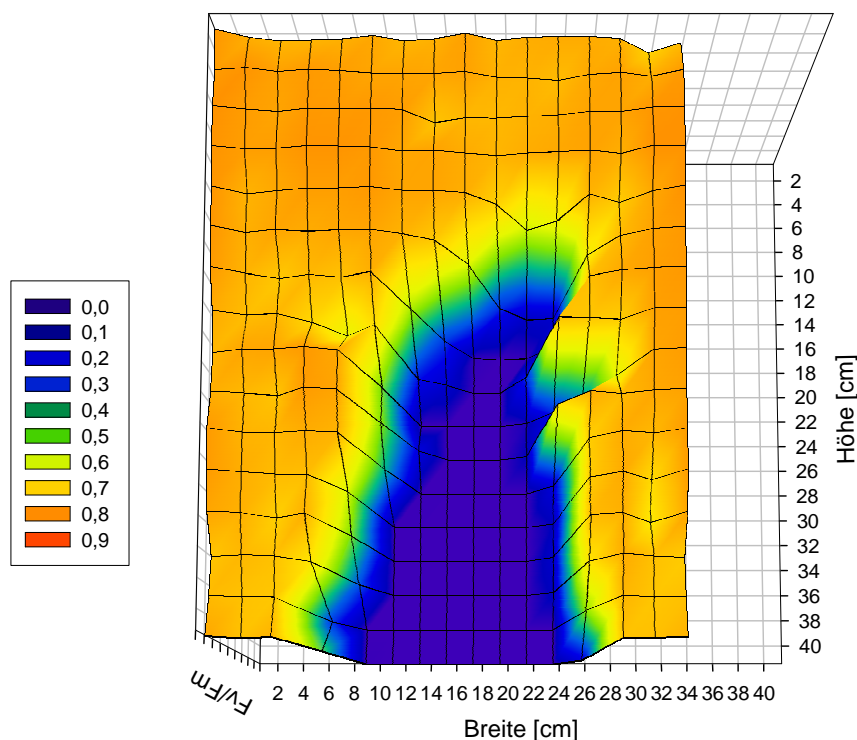


Abb. 48: Maximale Quantenausbeuten (F_v/F_m) in der Übergangszone von *P. alni*-geschädigtem zu unbeeinflusstem Rindengewebe einer Schwarzerle; dargestellt sind die Quantenausbeuten der Mantelfläche (41,4 cm Höhe x 31,8 cm Breite) durch Interpolation zwischen den Messergebnissen ($n = 945$)

Ein Auszug aus der Absorption und den zugehörigen F_v/F_m -Werten demonstriert noch einmal die Empfindlichkeit von F_v/F_m nach Überschreitung eines kritischen

Schwellenwerts, was sich in einem nahezu übergangslosen rapiden Absinken der Werte von 0,8 bis auf 0 äußerte. Die Absorption zeigte sich wiederum differenzierter bezüglich der Gewebeerstörung, als dass sie das gesamte Spektrum zwischen 0,18 und 0,69 abdeckte (vgl. Abb. 49). Der Bereich linearer Abhängigkeit zwischen Fv/Fm und der Absorption fehlte bei dieser Untersuchung nahezu, da es in dem Sinne keine Übergangszone gab, sondern gesundes und abgestorbenes Gewebe sehr scharf voneinander abgegrenzt waren. Entsprechend bildeten die Messwerte von Fv/Fm ein deutliches Plateau bezüglich des intakten Gewebeabschnitts sowie eine Nulllinie im zerstörten Bereich.

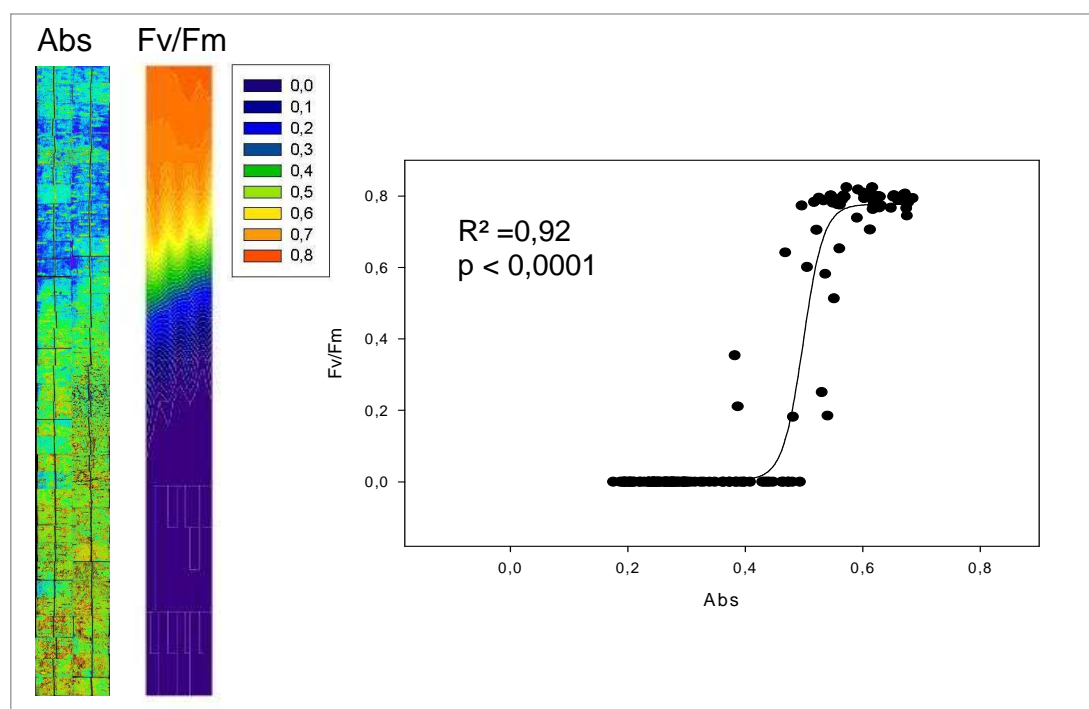


Abb. 49: Absorption (Abs) und maximale Quantenausbeuten (Fv/Fm) eines ausgewählten Abschnitts der Übergangszone; parallel dazu ist die Korrelation von Fv/Fm und Abs dargestellt

Anhand der Fluoreszenzmessungen wurde schließlich der Bereich der Übergangszone genau festgelegt und detaillierter hinsichtlich der Holz- und Rindenzerstörung untersucht.

Die Segmentierung des Untersuchungsbaumes ergab folgendes Bild (vgl. Abb 50a und b): Die Erle war zum Zeitpunkt der Fällung von der Basis bis zu einer Höhe von 2,5 m (Querschnitt 11) durchschnittlich zu 71 % (± 6 % SD) gegürtelt, entsprechend war im schlechtesten Fall nur ein Fünftel der Rinde unbeeinträchtigt. Das Holz zeigte

in diesem Abschnitt einen ähnlichen Destruktionsgrad; im Mittel waren 61 % (7 % SD) des Holzkörpers zerstört. Hinzuzufügen ist, dass anhand der visuellen Einschätzung allerdings keine Aussage über das Wasserleitungspotential des „intakten“ Holzteils gemacht werden kann. Clemenz (2007) zeigte in Zweig-Wasser-Potentialmessungen allerdings, dass die Wasserverfügbarkeit in der Krone symptomführender Erlen, unter Berücksichtigung des signifikant verringerten Verhältnisses zwischen Blattfläche und Astquerschnittsfläche, nicht eingeschränkt ist. Die höhere Astquerschnittsfläche zur Wasserversorgung deutet zumindest auf eine Anpassung an eine verringerte Leitfähigkeit des Stammes durch Reduzierung der Belaubung hin, um die Wasserverfügbarkeit für die restliche Belaubung zu erhalten.

Aus Abb. 50a und b wird ersichtlich, dass sich von der Stammbasis bis zur Höhe von 2,5 m (Segment 1 – 11, vgl. auch Abb. 6) ein relativ einheitlicher Zerstörungsgrad zeigte mit einem gleichmäßigen Anteil vermutlich noch funktionsfähigen Phloems.

Erst im Stammabschnitt zwischen 2,5 m und 2,94 m (festgelegt als Übergangszone) veränderten sich die Anteile intakten und zerstörten Gewebes massiv (Abb. 50a und b, M1 bis M15): Innerhalb dieses, zur Gesamtbaumlänge verhältnismäßig kurzen Abschnitts von lediglich 0,44 m Länge, fand die Infektionszunge ihren Abschluss; im oberen Bereich konnte weder zerstörtes Rindengewebe noch angegriffenes Holz gefunden werden. Auch in allen weiteren stammaufwärts gelegenen Segmenten (exemplarisch ist in den Diagrammen Segment 13 angeführt, was sich in einer Höhe von 5,20 m befand) waren keine weiteren Zeichen von Rinden- oder Holzschädigungen aufzufinden. Die direkte Infektion durch das Pathogen war damit lokal auf den Stamm festgelegt.

Beim Vergleich der Zerstörungsgrade von Holz und Rinde konnte eine deutliche Abhängigkeit beider Parameter festgestellt werden. Bei der Korrelation der Zerstörungsgrade beider Gewebe in Prozent ergab sich eine sigmoidale Abhängigkeit (Abb. 50c). Daraus geht eindeutig hervor, dass die Zerstörung des Holzes auf die der Rinde folgte. Bei intakter Rinde war auch das Holz entsprechend ungeschädigt. Erst nach dem Beginn der Zersetzung des Rindengewebes durch *P. alni*, bei einem Destruktionsgrad zwischen 30 und 40 %, kam eine Schädigung des Holzkörpers hinzu.

Dieser Abhängigkeitsbezug unterstützt die Beobachtungen, dass eine Infektion mit *P. alni* oft mit Sekundärinfektionen durch Holzpilze verknüpft ist.

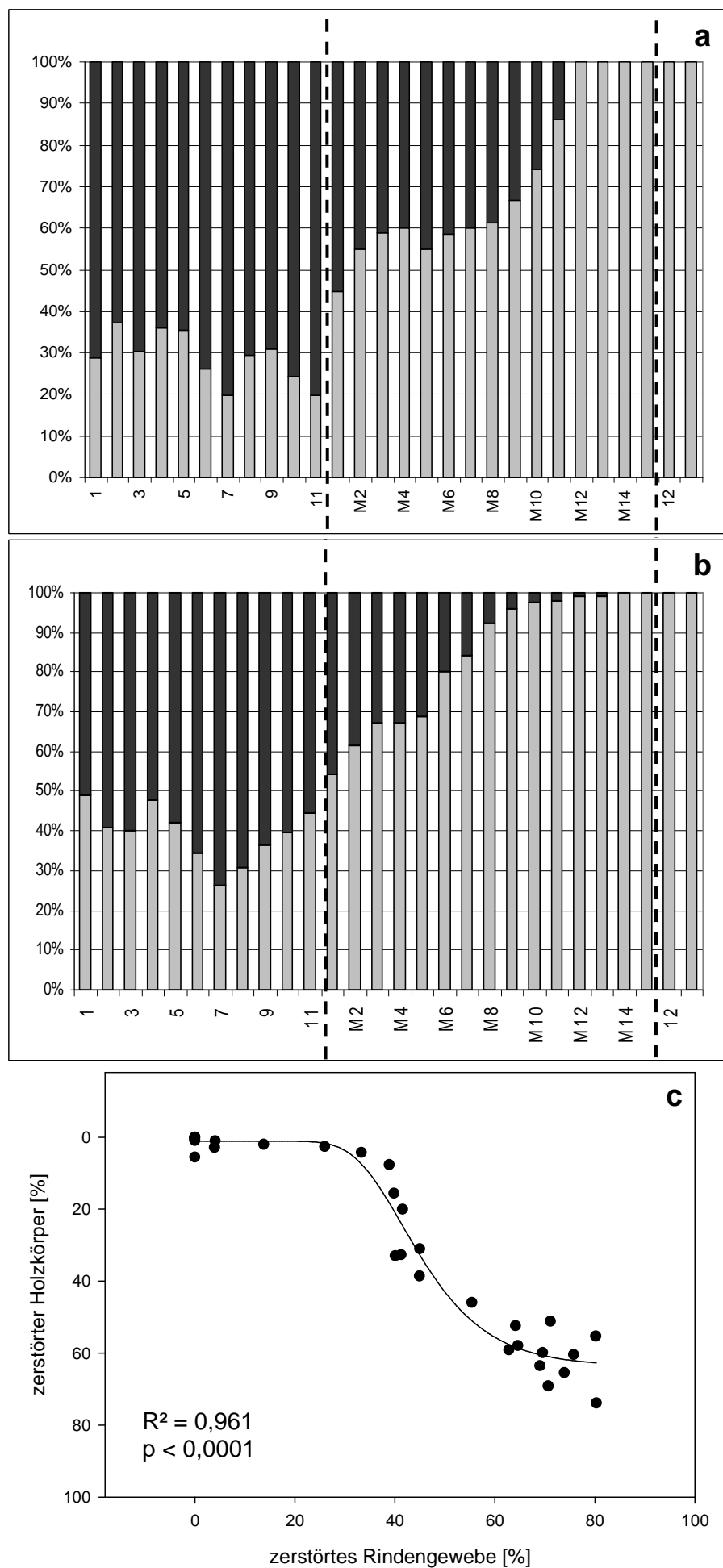


Abb. 50: (siehe vorige Seite) Gegenüberstellung von intakten und zerstörten Gewebeanteilen:
(a) Verhältnis von totem (schwarz) zu intaktem (grau) Rindengewebe pro Rindenquerschnitt (100%),
(b) Verhältnis von totem (schwarz) zu intaktem (grau) Holz pro Holzquerschnitt (100%),
(c) Korrelation zwischen den Anteilen zerstörten Holzes und zerstörten Rindengewebes (beides in %);
es wurden jeweils die in Abb. 6 markierten Stammsegmente, stammaufwärts orientiert, zur Auswertung hinzugezogen;
in (a) und (b) ist auf den Bereich der Übergangs- und Messzone hingewiesen (eingefasst von gestrichelten Linien; M1 – M15)

Im Holz der gefällten Erle konnten zumindest drei Gattungen saprophager (Mikro)Pilze identifiziert werden: *Chaetopsina*, *Cladosporium* (Dematiaceae) sowie *Haplographium* (Hyaloscyphaceae).

Schumacher et al. (2006) konnten in Verbindung mit *P. alni*-Infektionen zehn weitere Pilzarten (Weißfäuleerreger) parasitärer und saprophytischer Lebensweise ermitteln, wobei in abgeschlossenen mykologischen Erhebungen bereits über 40 verschiedene Pilzarten unabhängig vom Auftreten von *Phytophthora* an Schwarzerlen bestimmt werden konnten (Schumacher 2001). Noch 2004 wies er allerdings darauf hin, dass die Schäden, die durch holzerstörende Pilze entstünden, von der durch *Phytophthora* entstehenden Wurzelhalsfäule klar abzugrenzen seien und den Gesundheitszustand der Bäume auf ganz andere Weise beeinträchtigten als der eher biotroph einzuordnende Organismus *P. alni*.

Allerdings scheint im Rahmen des sogenannten „neuartigen“ Erlensterbens nach jetzigem Kenntnisstand eine separate Betrachtung von Holzfäule auf der einen Seite und der Infektion durch *P. alni* auf der anderen Seite nicht sinnvoll, da Holzfäulen als sekundäre Begleitfaktoren durchaus als Bestandteil der Pathogenese zu betrachten sind. Es ist kaum möglich, *P. alni* von älteren Nekrosen zu isolieren, da sich dort nach kürzerer Zeit gewöhnlich andere Pilze platzieren. Dass sich in sukzessiver Folge weniger pathogene Pilze einfinden, spricht für einen typischen Primärparasiten (Streito et al. 2002).

Die Festlegung von Primär- und Sekundärinfektion ergibt sich im Endeffekt daraus, dass viele holzerstörende Pilze erst über Wunden in der Rinde den Zutritt zum Holzkörper finden (Schlösser 1997), die in diesem Fall durch *P. alni* geschaffen wurden, während *P. alni* selbst unabhängig über die Feinwurzeln eindringen kann. Trotzdem stellt sich in diesem Zusammenhang die Frage, inwiefern eine Infektion mit

P. alni durch andere Faktoren wie die Vitalität der jeweiligen Erle oder bereits vorhandene Schwächungen durch andere Erreger begünstigt wird. Es ist zumindest davon auszugehen, dass eine Rindeninfektion durch eine sich daran anschließende Infektion des Holzkörpers und die damit potentiell zunehmende Schwächung des Baumes zusätzlich angetrieben wird.

4.4.3 Übergreifende Überlegungen

Untersucht wurden Bäume im Alter von ± 15 Jahren, was dem Alter der am häufigsten bzw. am auffälligsten betroffenen Zielgruppe von Schwarzerlen im Freiland entspricht. In Kombination mit der im Untersuchungsgebiet vorliegenden Unterart *P. alni* subsp. *alni* als aggressivster Form des Pathogens konnte eine rasante Ausbreitung des Erregers im Rindengewebe selbst bei suboptimalen Temperaturen festgestellt werden (vgl. 4.4.2.1). Da die Erlen zum Zeitpunkt der Untersuchung optisch bereits stark geschwächt waren, kann davon ausgegangen werden, dass die Geschwindigkeit der Ausbreitung in Beziehung mit dem zum jeweiligen Vitalitätszustand des betroffenen Baumes stand. Der Mangel an Fitness, der sich mit zunehmender Einflussnahme des Erregers eingestellt haben muss, beschleunigte die Pathogenese im Endstadium letztlich noch, wie es auch bei Schumacher (2005) anhand des exponentiellen Zusammenhangs zwischen Ummantelung und Mortalität von Schwarzerlen demonstriert wurde.

Infolge der Rindeninfektion mit dem Primärparasiten kamen sekundäre holzerstörende Pilze hinzu, die sich im Holz im gleichen Ausmaß ausbreiteten wie *P. alni* (zuvor) in der Rinde. Obwohl es sich um Folgeparasiten handelte, ist anzunehmen, dass sie durch die zusätzliche Schädigung und Schwächung des Baumes ebenfalls Multiplikatoren für einen beschleunigten Krankheitsablauf darstellten. In Verbindung mit *P. alni* treten sowohl saprophytische als auch parasitisch lebende Sekundärerreger auf, die selbst nachhaltige Schäden bewirken und somit wesentlich zur Komplexität der Pathogenese beitragen (Schumacher et al. 2006).

Anhand der Untersuchungen zur Infektionsdynamik am Stamm und zur Koppelung von Rindeninfektion und Zerstörung des Holzkörpers wurde das maximal mögliche Ausmaß einer Infektion mit *P. alni* ersichtlich, bei dem die Allokation von Assimilaten in Wurzelrichtung infolge finaler Stammgürtelung nicht mehr möglich gewesen sein

kann. Ebenso muss eine Einschränkung des Wasser- und Nährstofftransports vorgelegen haben, wie Clemenz (2007) für symptomführende Bäume mittels Xylemflussmessungen auch belegen konnte. Die indirekt systemische Einflussnahme von *P. alni* durch lokale Schädigungen am Stamm äußerte sich letztlich in der Blattlosigkeit der betroffenen Bäume. Obwohl über die Beteiligung von Toxinen im Zusammenhang mit *P. alni*-Infektionen diskutiert wird, kann auch der rein mechanische Schaden an der Rinde oder am Holz, der durch die Mazeration des Gewebes durch *P. alni* oder Holzpilze entsteht, systemische Auswirkungen in Krone und Wurzelwerk je nach Ausprägung der Destruktion bedingen, da wesentliche Stoffallokationen aufgrund eines reduzierten Querschnitts herabgesetzt bzw. behindert werden.

Der schädigende Einfluss von *P. alni* war schließlich auf unterschiedlichen Organebenen in unterschiedlichen Ausprägungen festzustellen: Neben der Störung photosynthetischer Parameter und der Veränderung von Blattspiegelwerten bezüglich Mikro- und Makroelementen (Clemenz 2007) waren weiterhin die Blüten- bzw. Fruchtstände von infizierten Schwarzerlen deutlich schwächer ausgebildet, was sich in der Reduktion der Größe, des Gewichts sowie des Chlorophyllgehalts äußerte. Allerdings zeigten sich auf physiologischer Ebene kompensatorische Reaktionen (vgl. 4.1.3), was in Verbindung mit der Sicherung der Nachkommen stehen kann. Eine übermäßige Blüten- und Fruchtbildung als unspezifische Antwort auf Stress ist bei Schwarzerlen ebenfalls bekannt (Jung und Blaschke 2004, Schumacher et al. 2005).

Auf der Ebene von Zweigen stellten sich vor allem bei 0-jährigen Achsenorganen die Auswirkungen als vielgestaltig heraus. Zweige, Äste und Stämme bilden die Verbindung zwischen der Belaubung und den generativen Anteilen zum Wurzelsystem und nehmen daher eine Art „leitende“ Zwischenstellung ein. Anders als die Stämme waren die Zweige nur indirekt von *P. alni* betroffen, wiesen aber als Resultat einer mangelhaften Versorgung der Krone einen über die Hälfte geringeren Chlorophyllgehalt als Zweige unbelasteter Bäume auf. Gleichzeitig zeigten sie eine höhere Bruttphotosynthese in Relation zum Chlorophyllgehalt, was als Stressreaktion oder kompensatorische Reaktion diskutiert werden kann (vgl. 4.4.1.3). Der rindenphotosynthetischen Aktivität junger Zweige kommt eine wichtige Rolle bezüglich ihres CO₂-Refixierungspotentials auch bei gesunden Bäumen zu (Pfanz et al. 2002, Aschan et al. 2003, Wittmann 2005, Wittmann et al. 2006), weshalb bei

Zweigen infizierter Erlen eine ausgleichende Funktion im Hinblick auf die zunehmende Kronenverlichtung im Rahmen einer Infektion nicht auszuschließen ist.

5 Weitere Überlegungen

Insgesamt kristallisierten sich zwei Hauptdimensionen der Einflussnahme durch *P. alni* heraus (vgl. Abb. 51):

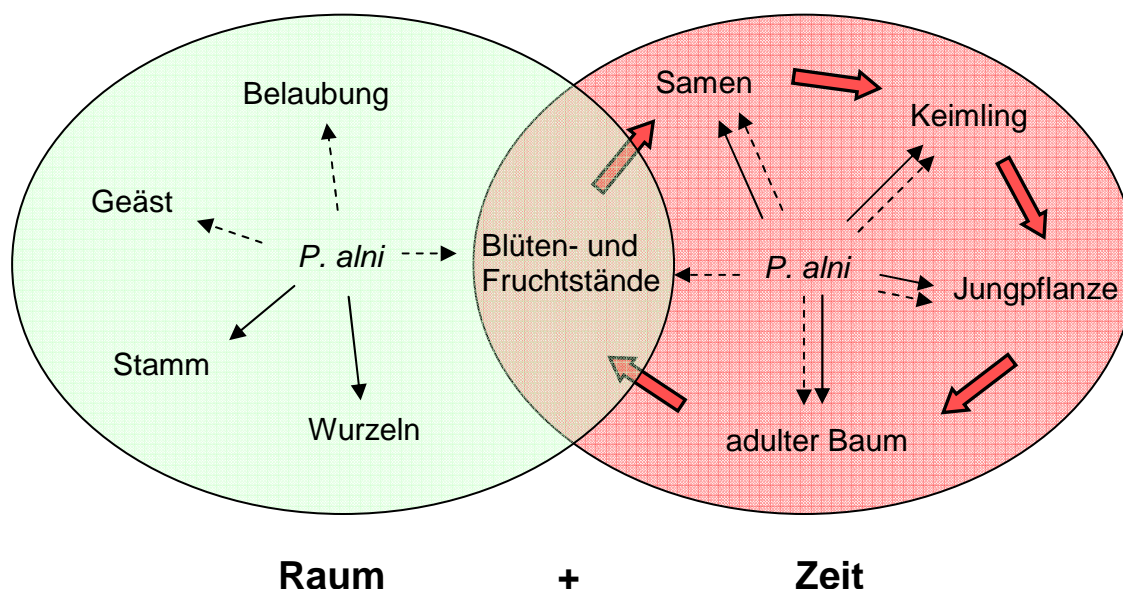


Abb. 51: Schema zu den Dimensionen („Raum“ und „Zeit“) der direkten und indirekten Einflussnahme durch *P. alni* auf die Schwarzerle. Pfeile mit durchgehenden Linien bedeuten direkte lokale Einflussnahme, Pfeile mit gestrichelter Linie indirekte Beeinflussung vor dem Hintergrund systemischer Schädigung. Rote Blockpfeile weisen auf die zeitliche Dimension (Entwicklungszyklus von *Alnus glutinosa*) hin.

Ein Befall mit *P. alni* wirkt sich in der räumlichen Dimension auf alle Organebenen der Schwarzerle aus, begonnen von der Wurzel als Eintrittspforte bis hin zu den generativen Bestandteilen (Blüten- und Fruchtstände). Der Einfluss im Stamm- und Wurzelbereich ist am besten nachvollziehbar, da es zu Gewebszerstörung durch direkten Kontakt kommt. Hauptsächlich im Kronenbereich wird von indirekten Schädigungen durch Nährstoff-, Wasser- und Assimilatimbancen infolge der Reduktion der leitenden Querschnitte (Phloem und Xylem) ausgegangen. Eine zusätzliche direkte Störung des Systems durch Toxine oder andere Stoffe kann nicht ausgeschlossen werden, da eine Existenz wirksamer Toxine oder ähnlichem im Zusammenhang mit *P. alni* noch nicht näher untersucht ist.

Neben der systemischen Wirkung auf den einzelnen Organismus kann *P. alni* den Entwicklungszyklus von *Alnus glutinosa* wahrscheinlich zu jedem Zeitpunkt stören oder unterbrechen (zeitliche Dimension), begonnen bei der Unterbindung der

Samenkeimung bis zur Initiierung des Absterbeprozesses ausgewachsener Bäume. Neben der direkten Einflussnahme durch Infektionsprozesse stellt sich die Frage, wie weitreichend die indirekte Einflussnahme des Pathogens auf den Entwicklungszyklus ist. Quantitativ betrachtet muss die Wirkung zumindest dezimierender Natur sein, da Samen infizierter Bäume größtenteils gar nicht erst auskeimen, ebenso wie Samen auf infiziertem Boden. Ob Keimlinge, die sich auf dem Hintergrund des Selektionsdrucks durch das Pathogen trotzdem etablieren können, für die Zukunft geschwächt, widerstandsfähiger oder möglicherweise resistent sind, bleibt zu klären.

Grundsätzlich konnte bei den Bäumen, ob künstlich inokuliert oder unter natürlichen Bedingungen infiziert, ein deutlicher Einbruch in der Rindenphotosynthese festgestellt werden, wenn sich *P. alni* in den jeweiligen Rindengeweben befand und ausbreitete. Die Rindenphotosynthese ist daher ein sensibler Indikator für den Schädigungsgrad durch *P. alni*. Es hat sich gezeigt, dass über die punktuelle Messung von maximalen Quantenausbeuten an der Stammoberfläche auf einfache und vor allem non-destruktive Weise das Ausmaß einer Infektion relativ genau eingeschätzt werden kann.

Weiterhin bleibt an dieser Stelle festzuhalten, dass die im Freiland vorgefundene Komplexität des Krankheitsbilds für Untersuchungen im Labor experimentell im Endeffekt nicht nachzubilden ist, da unter anderem die Komponente der Sekundärinfektion fehlt und Bäume fortgeschrittenen Alters in der Regel nicht künstlich infiziert werden. Tatsächlich stellen diese aber im Freiland die am stärksten von *P. alni* betroffene Gruppe dar (Jung und Blaschke 2003). Infektionen, die sich unter natürlichen Bedingungen etablierten, stellten sich als erheblich aggressiver heraus als Infektionen, die unter Laborbedingungen erzeugt wurden, was anhand des jeweiligen Entwicklungsverlaufs nachzuvollziehen ist (vgl. 4.3.3 und 4.4.2). *P. alni* ist daher möglicherweise aggressiver, als es bisher vor dem Hintergrund von Laboruntersuchungen angenommen wurde.

6 Zusammenfassung und Ausblick

Das Erlensterben durch eine Spezies der Gattung *Phytophthora* ist seit 1993 bekannt und wird seit 2004 offiziell dem Erreger *Phytophthora alni* (Brasier) zugeordnet, der sich in drei Subspezies gliedert und vermutlich aus Hybridisierungsereignissen hervorgegangen ist. Er zeichnet sich zum einen durch eine hohe Wirtsspezifität und zum anderen durch besondere Aggressivität gegenüber dem Wirt aus, wobei im Wesentlichen die Schwarzerle (*Alnus glutinosa* [L.] Gaertn.) betroffen ist. Adulte Bäume können innerhalb weniger Jahre absterben.

Aufgrund der ökologischen Stellung der Schwarzerle als Pioniergehölz gerade an Fließgewässern und anderen über Nässe definierten Standorten werden Infektionen durch die schwimmfähigen Zoosporen begünstigt, die sich über den Wasserweg entsprechenden Eintrittspforten wie Feinwurzeln und Lenticellen annähern.

Mit dieser Arbeit sollte vor allem die direkte, lokale Einflussnahme des Pathogens am Angriffsort „Stamm“ analysiert und näher charakterisiert werden, so dass die wesentlichen Untersuchungen auf dessen Ausbreitungsdynamik im Rindengewebe abzielten, um sich den Mechanismen, die zum Absterben der Schwarzerlen führen, anzunähern.

Übergeordnet sollte die Auswirkung von Infektionen auf verschiedene Alterstadien dargestellt werden, wobei sich der Kreislauf vom Keimling über die Jungpflanze zum adulten Baum über die Überprüfung von Fruchtständen adulter Erlen, den daraus hervorgehenden Samen und deren anschließender Keimung schloss. Die Untersuchungen berücksichtigten neben den schwerpunktmäßig ökophysiologischen, phytopathologischen Aspekten auch durch *P. alni* verursachte morphologische Abweichungen.

Bei den ausgewählten Altersstadien handelte es sich um Samen sowie um die daraus hervorgehenden Keimlinge, um 2,5 Jahre alte getopfte Jungerlen sowie um etwa ± 15 Jahre alte Schwarzerlen, wobei letztere Gruppe im Freiland untersucht wurde.

Diese adulten, an einem Bach positionierten Erlen zeigten grundlegende Symptome einer Infektion, als deren Urheber *P. alni* subsp. *alni* identifiziert wurde.

Sie bildeten unter anderem höchst signifikant kleinere und leichtere Blüten- und Fruchtstände. Die weiblichen Blütenstände symptomtragender Bäume wiesen weiterhin einen wesentlich geringeren Gesamtchlorophyllgehalt auf. Bei den

Kätzchen fand sich diesbezüglich kein Unterschied. Sowohl männliche als auch weibliche Blütenstände zeigten aber zum Zeitpunkt der Untersuchung ein wesentlich höheres Photosynthesevermögen, per Chlorophyllfluoreszenzanalyse festgelegt über die Geschwindigkeit des Elektronentransports während der Lichtreaktion, als Blütenstände symptomloser Erlen. Die Ergebnisse sprachen zum einen für kompensatorische Prozesse zugunsten des Erhalts von Nachkommen und zum anderen für eine verspätete Entwicklung im Vergleich zu nicht belasteten Blütenständen, deren Entwicklung nahezu abgeschlossen schien und weniger autonom erzeugte Energie benötigte. Der Entwicklungsstand gesunder Blüten- und Fruchtstände wurde bis zuletzt nicht erreicht, was unter anderem durch die Samenentwicklung belegt werden konnte.

Die Samen fielen, in Anlehnung an die Fruchtstände, höchst signifikant kleiner und leichter aus.

Die vermutete mangelhafte Ausstattung der Samen mit Reservestoffen bestätigte sich im Rahmen eines Aussaatversuchs. Das Keimprozent dieser Samen lag bei gerade 9 % im Gegensatz zu fast 69 %, das von großen und schwereren Samen gesunder Bäume erreicht wurde. Weiterhin wies die geringe Anzahl gekeimter Pflänzchen einen geringeren Höhenwuchs auf als auch eine erheblich kleinere Gesamtblattfläche pro Pflanze, was ebenfalls auf die schlechtere Grundversorgung der Keimlinge hindeutete. Auf der anderen Seite zeigten sich weder Unterschiede bezüglich des Gesamtchlorophylls noch der Photosyntheseparameter. Die Ergebnisse sprachen dafür, dass die Keimlinge weniger Energie in den Aufbau von Masse investierten bzw. investieren konnten zugunsten der Aufrechterhaltung existentieller Funktionen.

Ein Keimlingsversuch mit infiziertem Bodensubstrat skizzierte ein weiteres Szenario der Samenkeimung in Verbindung mit *P. alni*. Samen gesunder Erlen keimten auf infiziertem Boden nur mit einem Anteil von 7,2 % im Gegensatz zu einem Anteil von 43,6 % bei der Kontrollgruppe, wobei es innerhalb des Zeitraumes der Zählung zu einem stetigen Absterben der vermeintlich infizierten Keimlinge kam. Die wenigen gekeimten Pflänzchen zeigten zwar ein, wenn auch nicht signifikant, geringeres Höhenwachstum als die Kontrollen, gleichzeitig aber signifikant höhere Chlorophyllgehalte sowie eine vergleichbare photosynthetische Aktivität. Unter Anbetracht des Selektionsdrucks durch das Pathogen wurde ein Durchsetzen besonders widerstandsfähiger oder unter Umständen sogar resistenter Sämlinge

vermutet. Letztlich zeigte sich aber in beiden Untersuchungen bezüglich der Keimlingsvitalität, dass die Etablierung von Keimlingen unter der Einflussnahme von *P. alni* zu einer entscheidenden Hürde bezüglich natürlicher Verjüngungsprozesse werden kann.

Jungpflanzen, die künstlich über die Stammbasis mit Myzel infiziert und über einen Zeitraum von drei Monaten im nahen Infektionsbereich hinsichtlich der Läsionsausprägungen und verschiedener Photosyntheseparameter wie der Absorption, maximaler Quantenausbeuten und Atmungsraten untersucht wurden, zeigten ein breites Reaktionsspektrum bezüglich der Infektion. Gemeinsam war den Pflanzen ein reduziertes Dickenwachstum bei gleichzeitig unbeeinflusstem Höhenwachstum. Die maximalen Quantenausbeuten im nahen Infektionsfeld wurden vor allem stammaufwärts über die Dauer des Untersuchungszeitraumes reduziert, wobei sich der Radius der erniedrigten Quantenausbeuten über die Zeit vergrößerte, während sich die Werte vom Infektionsursprung aus teilweise wieder regenerierten. Dies unterstützte unter anderem die These zum aktiven Aufenthalt des Pathogens in der Übergangszone zwischen lebendem und totem Gewebe und daher vermehrt in den Randbereichen der Infektion. Absorptionsmessungen untermauerten jeweils die Ergebnisse zur Quantenausbeute und waren ein Indikator für die Reduktion des Chlorophyllgehalts, die sich infolge des Myzelwachstums durch die Rinde und die damit einhergehende Gewebsdestruktion ergab. Während sich bei einigen Erlen die Ausbreitung der Läsionen und damit voraussichtlich des Myzels im Laufe der Messperiode einstellte und sich einige Gewebeareale zu regenerieren schienen, wie sich aus wieder ansteigenden Absorptionskoeffizienten und maximalen Quantenausbeuten schließen ließ, zeigte sich bei anderen eine stetige Vergrößerung der Läsionen, die mit einem sich ebenso stetig vermindernenden Photosynthesepotential einherging.

Die Atmungsraten an der Stammbasis, gemessen im direkten Infektionsumfeld, variierten deutlich vor dem Hintergrund saisonaler Wachstumsunterschiede und fielen bei den infizierten Erlen im Vergleich zu den Kontrollbäumen jeweils geringer aus. Erklärt wurde dies über das geringere Dickenwachstum im Zuge der Infektion. Die Heterogenität der Jungerlen war ein wesentliches Charakteristikum dieser Untersuchungsreihe, ebenso die allgemeine Widerstandsfähigkeit, da sich alle Pflanzen von der einmaligen Infektion erholten.

Bei adulten, auf natürlichem Wege infizierten Erlen im Freiland, die sich im vorangeschrittenen Krankheitsstadium befanden, war hingegen am Stamm eine rasante Infektionsentwicklung zu konstatieren, wobei auf die rückläufige Entwicklung maximaler Quantenausbeuten und Absorptionskoeffizienten Bezug genommen wurde. Diese fortschreitende Entwicklung wurde auch durch niedrige Temperaturen $< 5^{\circ}\text{C}$ nicht gestört. Aus der Analyse von Stammquerschnitten ging hervor, dass der Ausbreitung des Pathogens in der Rinde die Etablierung von holzerstörenden Organismen im Holz folgte, was zur Beschleunigung der Pathogenese beigetragen haben mag. Die überraschend schnelle Infektionsdynamik, die an Bäumen im Freiland vorzufinden war, war stand in keinem Vergleich mit den unter Laborbedingungen erzielten Ergebnissen.

Die Beeinträchtigung der Bäume durch den Krankheitskomplex zeigte sich nicht nur auf Ebene des Stammes, der Belaubung und der Blüten- und Fruchtstände, sondern äußerte sich ebenfalls auf der Ebene von jungen Zweigen in Form von erheblich reduzierten Chlorophyllgehalten bei gleichzeitig erhöhtem Rindenvolumen, verstärkter Dunkelatmung sowie einer hohen Bruttophotosynthese in Relation zu den geringen Chlorophyllgehalten. Die defizitäre Versorgung der Krone, die im Rahmen einer systemischen Schädigung durch *P. alni* sowie sekundär auftretenden Organismen entsteht, sowie die daraus resultierende Stresssituation wurden als Ursache für den Zustand der Zweige gesehen.

Mit Bezugnahme auf die Ergebnisse und auf literaturbezogene Informationen konnte der durch *P. alni* entstehende Schaden schließlich auf verschiedenen räumlichen Ebenen des einzelnen Organismus dargestellt werden, aber auch eine übergreifende Einflussnahme auf verschiedene Entwicklungsebenen ließ sich skizzieren.

Es konnte weiterhin resümiert werden, dass die Rindenphotosynthese ein sensibler Indikator für lokale Schädigungen durch *P. alni* ist und sich punktuelle Messungen der maximalen Quantenausbeute als einfache sowie non-destruktive Methode zur Ermittlung der Infektionsausbreitung anbieten.

Zu den bereits vorliegenden Erkenntnissen über die (Aus)wirkung von *P. alni* auf Schwarzerlen kamen mit dieser Arbeit einige weitere Aspekte physiologischer und morphologischer Art hinzu, so dass das Wirkungsspektrum von *P. alni* auf

Schwarzerlen mittlerweile gut beschrieben werden kann. Trotzdem bleiben einige Fragen offen bzw. ergeben sich aus den abgeschlossenen Untersuchungen:

Nach wie vor wird die Frage nach einer Einflussnahme toxischer Stoffe im Zusammenhang mit *P. alni*-Infektionen diskutiert, so dass an dieser Stelle dringender Klärungsbedarf besteht, zumal die Expression von Elicitin-Genen bei *P. alni* bereits nachgewiesen ist.

Im Rahmen meiner Untersuchungen, Recherchen und Überlegungen bezüglich des Toxizitätsaspekts entwickelte sich außerdem die Idee einer „Selbstvergiftung“. Vor allem die Rindengewebe der Schwarzerle weisen einen relativ hohen Phenolgehalt auf. Weiterhin ist bekannt, dass erhöhte Konzentrationen an reaktiven Sauerstoffspezies, die bei Verwundungen entstehen, an die Produktion von antimikrobiellen Phenolen gekoppelt sind. Auch bei Abwehrreaktionen gegen Pathogene kommt es zur Akkumulation von Phenolen (Mornau und Treutter 2003). Zum einen dürfte die Phenolkonzentration in der Rinde durch eine Infektion mit *P. alni* tendenziell ansteigen, zum anderen werden durch den Erreger ganze Bereiche des Rindengewebes zerstört, unter Umständen darüber hinaus auch Grenzschichten zum Holzkörper. Es wäre demnach möglich, dass sich Phenole oder auch andere Stoffe aus den Geweben herauslösen und mit dem Xylemfluss in Richtung der Krone transportiert werden. Es muss geprüft werden, ob Phenole in Xylemflüssen von Erlen nachgewiesen werden können und ob sich die Konzentrationen zwischen nicht infizierten Bäumen und infizierten Bäumen unterscheiden. Möglicherweise können sich pflanzeneigene Abwehrstoffe, an der falschen Stelle lokalisiert, auch gegen pflanzliche Gewebe richten.

Eine weitere Überlegung ergab sich im Hinblick auf das mit *Alnus glutinosa* symbiotisch auftretende Bakterium *Frankia alni*, das stickstofffixierende Funktionen übernimmt. Es tritt, wie auch *P. alni*, im Wurzelbereich der Schwarzerlen auf und bildet dort Wurzelknöllchen. Untersuchungen ergaben, dass die Knöllchenbildung deutlich inhibiert wird, wenn das Wachstumssubstrat hohe Nitratmengen aufweist (Pizelle 1966). Ähnliches wurde auch bei Untersuchungen an *A. incana* festgestellt, bei denen man zu dem Schluss kam, dass interner Stickstoff in den Wurzeln, bedingt durch externe Nitratzufuhr, die Initiation von Knöllchen und deren Wachstum hemmt; Knöllchenwachstum scheint sensitiv auf den Stickstoff-Status der Pflanze zu reagieren, was als Rückkopplungsregulation gewertet wird (Baker et al. 1997, Gentili und Huss-Danell 2003). Gleichzeitig konnten Gibbs et al. (1999) feststellen, dass das

Auftreten der *P. alni* bedingten Krankheit mit einem hohem Nitratgehalt im Wasser assoziiert ist. Es wäre zu klären, ob die Abwesenheit des Symbionten ein begünstigender Faktor für eine Infektion mit *P. alni* sein kann.

Zukunftsorientiert muss in jedem Fall weiterhin die Frage nach resistenten Pflanzen verfolgt werden. Die Prüfung der Etablierung von Keimlingen auf infiziertem Boden gab zumindest einen weiteren Hinweis darauf, dass es resistente Pflanzen geben könnte. Es wäre zunächst notwendig, die Entwicklung solcher Pflanzen längerfristig zu verfolgen.

Im Zuge globaler Erwärmung ist es weiterhin interessant zu prüfen, inwiefern *P. alni* *in vivo* tatsächlich in Abhängigkeit von *in vitro* ermittelten Temperaturfenstern wächst. Die ermittelte rasante Ausbreitung des Myzels auch bei sehr niedrigen Temperaturen konnte die bisherigen Annahmen nicht immer unterstützen, wobei gleichzeitig die verstärkte Ausbreitung des Pathogens auf der Südseite des Untersuchungsbaumes die bisherigen Ergebnisse zu optimalen Wachstumstemperaturen tendenziell bekräftigte. Eine fundierte Bestätigung der begünstigenden Wachstumstemperaturen *in vivo* wäre mit Sicherheit ein Beleg für einen weiteren, das Krankheitsausmaß begünstigenden Faktor, dem zukünftig noch mehr Bedeutung zukommen könnte.

Literaturverzeichnis

- AAS, G. (2003): Die Schwarzerle, *Alnus glutinosa*. Dendrologische Anmerkungen. In: Beiträge zur Schwarzerle. LWF Wissen 42. Freising
- ARMSTRONG, W. und ARMSTRONG, J. (2005): Stem photosynthesis not pressurized ventilation is responsible for light – enhanced oxygen supply to submerged roots of alder (*Alnus glutinosa*). Annals of Botany 96, 591 – 612
- ASCHAN, G., WITTMANN, C., PFANZ, H. (2001): Age-dependent bark photosynthesis of aspen twigs. Trees 15, 431 – 437
- ASCHAN, G. und PFANZ, H. (2002): Non-foliar photosynthesis – a strategy of additional carbon acquisition. Flora 198, 81 - 97
- ATKIN, O.K., HOLLY, C., BALL, M.C. (2000): Acclimation of snow gum (*Eucalyptus pauciflora*) leaf respiration to seasonal and diurnal variations in temperature: the importance of changes in the capacity and temperature sensitivity of respiration. Plant, Cell and Environment 23, 15 – 26
- BAKER, A., HILL, G.F., PARSONS, R. (1997): Evidence for N feedback regulation of N₂ fixation in *Alnus glutinosa* L.. Journal of Experimental Botany Vol.48, Nr. 306, 67 – 73
- BAZZAZ, F.A. und CARLSON, R.W. (1982): Photosynthetic acclimation to variability in the light environment of early and late successional plants. Oecologia 54, 313 – 316
- BLEIN, J.P., MILAT, M.L., RICCI, P. (1991): Responses of cultured tobacco cells to cryptogein, a proteinaceous elicitor from *Phytophthora cryptogea*. Plant Physiology 95, 468 – 491
- BERVEILLER, D., KIERZKOWSKI, D., DAMESIN, C. (2007): Interspecific variability of stem photosynthesis among tree species. Tree physiology 27, 53 – 61
- BONNET, P., POUPET, A., ABAD, P., VENARD, P., CARDIN, L. (1986) : Induction de nécroses foliaires, de protéines b et de résistance dans les interactions tabac — *Phytophthora* Agronomy for Sustainable Development 6, 829 – 837
- BRASIER, C.M. (1992): Oak tree mortality in Iberia. Nature 360, S. 539

- BRASIER, C.M. und SCOTT, J.K. (1994): European oak declines and global warming: a theoretical assessment with special reference to the activity of *Phytophthora cinnamomi*. EPPO Bulletin 24 (1), 221 – 232
- BRASIER, C.M. (1996): *Phytophthora cinnamomi* and oak decline in southern Europe Environmental constraints including climate change. Annals of Forest Science 53, 347 – 358
- BRASIER, C.M., COOKE, D.E.L. & DUNCAN, J.M. (1999): Origin of a new *Phytophthora* pathogen through interspecific hybridization. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 96, 5878-5883
- BRASIER, C.M. (2003): *Phytophthoras* in European forests: Their rising significance. Sudden oak death Online Symposium. www.apsnet.org/online/SOD (website of the American Phytopathological Society). 06.05.2009
- BRASIER, C.M., KIRK, S.A., DELCAN, J., COOKE, D.E.L., JUNG, T., MAN IN'T VELD, W.A. (2004): *Phytophthora alni* sp. nov. and its variants: Designation of emerging heteroploid hybrid pathogens spreading on *Alnus* trees. Mycological Research, 108, 1172-1184
- BROWN, A.V. und BRASIER, C.M. (2007): Colonization of tree xylem by *Phytophthora ramorum*, *P. kernoviae* and other *Phytophthora* species. Plant Pathology, 56, 227 – 241
- BRUMMER, M, AREND, M., FROMM, J., SCHLENZING, A., OßWALD, W. (2002): Ultrastructural changes and immunocytochemical localisation of the elicitor quercinin in *Quercus robur* L. roots infected with *Phytophthora quercina*. Physiological and Molecular Plant Pathology 61, 109 – 120
- CATALÁN, L., BALZARINI, M., TALEISNIK, E., SERENO, R., KARLIN, U. (1994): Effects of salinity on germination and seedling growth of *Prosopis flexuosa* (D.C.) Forest Ecology and Management 63, 347 – 357
- CLEMENZ, C. (2007): Freiland- und Laboruntersuchungen zu den phytopathologischen und ökophysiologischen Mechanismen des Erlensterbens (*Alnus glutinosa*) ausgelöst durch die „Erlenphytophthora“. Dissertationsschrift. Erstellt am Fachgebiet Pathologie der Waldbäume, Technische Universität München

- CLEMENZ, C., FLEISCHMANN, F., HÄBERLE, K.-H., MATYSSEK, R., OßWALD, W. (2008): Photosynthetic and leaf water responses of *Alnus glutinosa* saplings to stem-base inoculation with *Phytophthora alni* subsp. *alni*. Tree physiology 28, 1703-1711
- CAMPBELL, N.A. (1997): Biologie. Spektrumverlag, Heidelberg – Berlin – Oxford
- CARRODUS, B.B. und TRIFFETT, A.C.K. (1975): Analysis of respiratory gases in woody stems by mass spectrometry New Phytologist 74, 243 – 246
- CHURNGCHOW, N., RATTARASARN, M. (2000): The elicitor secreted by *Phytophthora palmivora*, a rubber tree pathogen. Phytochemistry 54, 33 – 38
- COOKE, D.E.L., DRENTH, A., DUNCAN, J.M., WAGELS, G., BRASIER, C.M. (2000): A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related Oomycetes. Fungal Genetics and Biology 30, 17-32
- CRANDALL, B.S., GRAVATT, G.F., RYAN, M.M. (1945): Root disease of *Castanea* species and some coniferous and broadleaf nursery stocks caused by *Phytophthora cinnamomi*. Phytopathology 35, 162 – 180
- CROMBIE, S., TIPPETT, J.T. (1990): A comparison of water relations, visual symptoms and changes in stem girth for evaluating impact of *Phytophthora cinnamomi* dieback on *Eucalyptus marginata*. Canadian Journal of Forest Research 20: 233-240
- DAMESIN, C. (2003): Respiration and photosynthesis characteristics of current-year stems of *Fagus sylvatica*: from the seasonal pattern to an annual balance. New Phytologist 158, 465 – 475
- DAY, W.R. (1932): The ink disease in England. Forestry 6, S. 182
- DAY, W.R. (1938): Root rot of sweet chestnut and beech caused by species of *Phytophthora*. I. Cause and symptoms of disease: It's relation to soil conditions. Forestry 12, 101 – 116
- DE ATRIP, N., O'REILLY, C., BANNON, F. (2007): Target seed moisture content, chilling and priming pretreatments influence germination temperature response in *Alnus glutinosa* and *Betula pubescens*. Scandinavian Journal of Forest Research, 22 (4), 273 – 279

- DELCAN, J. und BRASIER, C.M. (2001): Oospore viability and variation in zoospore and hyphal tip derivatives of the hybrid alder *Phytophthora*. *Forest Pathology* 31, 65 – 83
- DICK, M.W. (1990): Phylum Oomycota. In: MARGULIS, L., CORLISS, J.O., MELKONIAN, M., CHAPMAN, J.D. (eds.): *Handbook for Protoctista*. Jones & Barlett, Boston, 661 – 685
- DICKMANN, D.I. und KOZLOWSKI, T.T. (1970): Photosynthesis by green strobili of *Pinus resinosa*. *Life sciences* 9, Teil 2, 549 – 552
- DUBERY, I.A., MEYER, D., BOTHMA, C. (1994): Purification and characterization of catorein, a phytotoxin secreted by *Phytophthora cactorum*. *Phytochemistry* 35 (2), 307 – 312
- ÉRSEK, T., NAGY, Z.Á. (2008): Species hybrids in the genus *Phytophthora* with emphasis on the alder pathogen *Phytophthora alni*: a review. *European Journal of Plant Pathology*, 122, 31 – 39
- ERWIN, D.C. und RIBEIRO, O.K. (1996): *Phytophthora Diseases Worldwide*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota
- ESCHENBACH, C. (1995): Zur Physiologie und Ökologie der Schwarzerle (*Alnus glutinosa*). Dissertationsschrift. Erstellt am Fachgebiet Pathologie der Waldbäume, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
- ESCHRICHT, W. (1995): Funktionelle Pflanzenanatomie. Springer Verlag
- EYLES, A., PINKARD, E.A., O'GRADY, A.P., WORLEDGE, D., WARREN, C.R. (2009): Role of corticular photosynthesis following defoliation in *Eucalyptus globulus*. *Plant, Cell and Environment* (2009) 32, 1004 – 1014
- FLEISCHMANN, F., KOEHL, J., PORTZ, R., BELTRAME, A.B., OßWALD, W. (2005): Physiological changes of *Fagus sylvatica* seedlings infected with *Phytophthora citricola* and the contribution of its elicitor "citricolin" to Pathogenesis. *Plant Biology* 7, 650 – 658
- GENTILI, F. und HUSS-DANELL, K. (2003): Local and systemic effects of phosphorus and nitrogen on nodulation and nodule function in *Alnus incana*. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 54, No. 393, 2757 – 2767

- GIBBS, J.N. (1995): *Phytophthora* root disease of alder in Britain. EPPO Bulletin 25, 661 - 664
- GIBBS, J.N., LIPSCOMBE, M.A., PEACE, A.J. (1999): The impact of *Phytophthora* disease on riparian populations of common alder (*Alnus glutinosa*) in southern Britain. European Journal of Forest Pathology, 29, 39-50
- GIBBS, J.N., VAN DIJK, C., WEBBER, J.F. eds. (2003): *Phytophthora* disease of alder in Europe. Edinburgh, UK: Forestry Commission Bulletin No. 126
- GLASE, J.C. und GRANET, K. (1978): Bark chlorophyll in the American beech (*Fagus grandifolia*) varies with bark aspect. American midland naturalist 100, 510 - 512
- HEINZ WALZ GmbH (2003): IMAGING-PAM Chlorophyll Fluorometer, Instrument Description and Information for Users. Effeltrich
- HEISER, I., FROMM, J., GIEFING, M., KOEHL, J., Oßwald, W. (1999): Investigations on the action of *Phytophthora quercina*, *P. citricola* and *P. gonapodyides* toxins on tobacco plants. Plant physiology and Biochemistry 37, 73 – 81
- IOOS, R., ANDRIEUX, A., MARCAIS, B., FREY, P. (2006): Genetic characterisation of the natural hybrid species *Phytophthora alni* as inferred from nuclear and mitochondrial DNA analyses. Fungal Genetics and Biology, 43, 511-529
- IOOS, R., PANABIÈRES, F., INDUSTRI, B., ANDRIEUX, A., FREY, P. (2007): Distribution and Expression of Elicitin Genes in the Interspecific Hybrid Oomycete *Phytophthora alni*. Applied and Environmental Microbiology, 73 (17), 5587 – 5597
- JENSEN, K.F. (1969): Oxygen and carbon dioxide concentrations in sound and decaying red oak trees. Forest Science 15, 246 – 251
- JUNG, T., BLASCHKE, M., OßWALD, W. (2000): Involvement of soilborne *Phytophthora* species in Central European oak decline and the effect of site factors on the disease. Plant pathology 49, 706 – 718
- JUNG, T. und BLASCHKE, M. (2001): *Phytophthora* – Wurzelhalsfäule der Erlen. Hrsg. LWF, Merkblatt Nr. 6
- JUNG, T. und BLASCHKE, M. (2004): *Phytophthora* root and collar rot of alders in Bavaria: distribution, modes of spread and possible management strategies. Plant Pathology, 53, 197-208

- JUNG, T. (2005): Wurzel- und Stammschaden an Buchen (*Fagus sylvatica* L.) durch bodenbürtige Phytophthora – Arten in Bayern. Forst und Holz 60 (4), 131 – 139
- JUNG, T., HUDLER, G.W., JENSEN-TRACY, S.L., GRIFFITHS, H.M., FLEISCHMANN, F., OßWALD, W. (2005): Involvement of Phytophthora ssp. in the decline of European beech in Europe and the USA. Mycologist 19 (4), 159 – 166
- JÜPTNER, M. (2006): Ausbreitung und Wirkung von *Phytophthora alni* in Erlen – Ökophysiologische und anatomische Untersuchungen an Schwarzerlen (*Alnus glutinosa*). Diplomarbeit. Erstellt am Institut für Angewandte Botanik, Universität Duisburg-Essen
- KAUPPI, A. (1991): Seasonal fluctuations in chlorophyll content in birch stems with special reference to bark thickness and light transmission, a comparison between sprouts and seedlings. Flora 185, 107 – 125
- KRAMER, P.J. und KOZLOWSKI, T.T. (1979): Physiology of Woody Plants. Academic Press. New York
- KUBIN, S.: Definition, Bewertung und Messung der photosynthetisch aktiven Strahlung. Gartenbauwissenschaft 50, 120 – 128
- LAGONI, N. (2003): Arzneiliche Anmerkungen zur Schwarzerle (*Alnus glutinosa* (L.) GAERTNER). In: Beiträge zur Schwarzerle. LWF Wissen 42, 20 - 23
- LARCHER, W. (2001): Ökophysiologie der Pflanzen. Leben, Leistung und Stressbewältigung in ihrer Umwelt. UTB Verlag, Stuttgart
- LARCHER, W., LÜTZ, C., NAGELE, M., BODNER, M. (1988): Photosynthetic functioning and ultrastructure of chloroplasts in stem tissue of *Fagus sylvatica*. Journal of Plant Physiology 132, 731 – 737
- LEVIZOU, E., PETROPOULOU, Y., MANETAS, Y. (2004): Total carotenoid amount in crude twig extracts may be overestimated due to interference by high contents of co-extracted phenolics. Photosynthetica 42 (2), 295 – 297
- LEVIZOU, E. und MANETAS, Y. (2008): Maximum and effective PSII yields in the cortex of the main stem of young *Prunus cerasus* trees: effects of seasons and exposure. Trees 22 (2), 159 – 164

- LEVY, P.E., MEIR, P., ALLEN, S.J., JARVIS, P.G. (1999): The effect of aqueous transport of CO₂ in xylem sap on gas exchange in woody plants. *Tree Physiology* 19, 53 – 58
- LICHTENTHALER, H.K., BUSCHMANN, C., DÖLL, M., FIETZ, H.J., BACH, T., KOZEL, U., MEIER, D., RAHMSDORF, U. (1981): Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure, and leaf characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. *Photosynthesis Research* 2, 115 – 141
- LICHTENTHALER, H.K. (1988): In vivo fluorescence as a tool for stress detection in plants. In LIECHENTHALER (eds.): *Applications of chlorophyll fluorescence*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Boston, London
- LILJA, A., KOKKOLA, M., HANTULA, J., PARIKKA, P. (2006): *Phytophthora* spp.. A new threat to tree seedlings and trees. *Aktuelt fra skogforskningen* 1/06, 48 – 51
- MANETAS, Y. (2004): Probing corticular photosynthesis through *in vivo* chlorophyll fluorescence measurements : evidence that high internal CO₂ levels suppress electron flow and increase the risk of photoinhibition. *Physiologia Plantarum* 120, 509 – 517
- MARTIN, T.A., TESKEY, R.O., DOUGHERTY, P.M. (1994): Movement of respiratory CO₂ in stems of loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seedlings. *Tree Physiology* 14: 481-495.
- MATYSSEK, R., GÜNTHARDT-GOERG, S., MAURER, R.C. (2002): Tissue structure and respiration rates of stems of *Betula pendula* under contrasting ozone exposure and nutrition. *Trees* 16, 375 – 385
- MAURER, S., MATYSSEK, R. (1997): Nutrition and the ozone sensitivity of birch (*Betula pendula*), II. Carbon balance, water-use efficiency and nutritional status of the whole plant. *Trees* 12, 11 – 20
- McVEAN, D.N. (1955): Ecology of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. II. Seed distribution and germination. *Journal of Ecology* 43 (1), 61 – 71
- MILAT, M., DUCRUET, J., RICCI, P., Marty, F., Blein, J. (1991) : Physiological and structural changes in tobacco leaves treated with cryptogein, a proteinaceous elicitor from *Phytophthora cryptogea*. *Phytopathology* 81 (11), 1364 – 1368

- MORNAU, M. und TREUTTER, D. (2003): Veränderte Wundreaktion in der Apfelrinde durch *Phytophthora* – Exsudate. Gesunde Pflanzen, 55. Jahrg. (4), 98 – 104
- MURCHIE, E.H., HORTON, P. (1997): Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: chlorophyll content, photosynthetic capacity and habitat preference. Plant, Cell and Environment 20, 438 - 448
- NISHIO, J.N. (2000): Why are higher plants green? Evolution of the higher plant photosynthetic pigment complement. Plant, Cell and Environment, 23, 539 – 548
- NEGISI, K. (1977): Respiration in forest trees. In: SHIDEI, T. und KIRA, T. (eds): Primary productivity of Japanese forests. – Productivity of terrestrial communities. Vol. 16, Universität Tokyo, 86 – 99
- NESPOULOUS, C., HUET, J.C., PERNOLLET, J.C. (1992): Structure-function relationships of α and β elicitors, signal proteins involved in the plant – *Phytophthora* interaction. Planta 186, 551 – 557
- ORWALD, W., JUNG, T., NECHWATAL, A., SCHLENZIG, A., FLEISCHMANN, F. (2001): Significance of *Phytophthora* and *Phytium* for oak, alder and spruce decline. Journal of Forest Science 47, 96 – 103
- ORWALD, W., KOEHL, J., HEISER, I., NECHWATAL, J., FLEISCHMANN, F. (2004): New insights in the genus *Phytophthora* and current diseases these pathogens cause in their ecosystem. Progress in Botany. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- PEARSON, L.C., LAWRENCE, D.B. (1958): Photosynthesis in aspen bark. American Journal of Botany 45, 383 – 387
- PIZELLE, G. (1966) : L'azote minéral et la nodulation de l'aune glutineux (*Alnus glutinosa*). II. Observations sur l'action inhibitrice de l'azote minéral a l'égard de la nodulation. Annales Institut Pasteur 111, 259 – 264
- PFANZ, H., ASCHAN, G. (2000): The existence of bark and stem photosynthesis in woody plants and its significance for the overall carbon gain. An ecophysiological and ecological approach. Progress in botany, 62. Springer Berlin Heidelberg New York, 477 – 510

- PFANZ, H., ASCHAN, G., LANGENFELD-HEYSER, R., WITTMANN, C., LOOSE, M. (2002): Ecology and ecophysiology of tree stems: corticular and wood photosynthesis. *Naturwissenschaften* 89, 147 – 162
- PILARSKI, J. (1989): Photochemical activity of isolated chloroplasts from the bark and leaves of the lilac (*Syringa vulgaris* L.) *Photosynthetica* 24, 186 – 189
- PLOETZ, R.C. und SCHAFFER, B. (1989): Effects of flooding and *Phytophthora* root rot on net gas exchange and growth of avocado. *Phytopathology*, 204 – 208
- PRELL, H.H. (1996): Interaktionen von Pflanzen und phytopathogenen Pilzen. Fischer Verlag, Stuttgart
- PUCKO, M., GREBENC, T., KASNIK, C.R., BOZIC, G., KONNERT, M., KRAIGHER, H. (2005): Effects of biotic stress on seed quality and antioxidant content in Norway spruce trees from approved seed stands in Slovenia. *Phyton* 45 (3), 331 – 339
- RONEN, R., GALUN, M. (1984): Pigment extraction from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. – *Environ. & Exp. Bot.* 24: 239 – 245
- RUETZ, W.F., FRANKE, A., RAU, H.-M. (2000): Prüfung der Nachkommen einiger Bestände und Samenplantagen der Schwarzerle (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.). *Forst und Holz* 55 (2), S. 39 – 43
- SACHS, L. (1995): Angewandte Statistik – Anwendung Statistischer Methoden. Springer Verlag, Berlin
- SANTINI, A., BARZANTI, G. P., CAPRETTI, P. (2001): A new *Phytophthora* root disease of alder in Italy. *Plant Disease* 5, 560
- SANTINI, A., BIANCALANI, F., BARZANTI, G.P., CAPRETTI, P. (2006): Pathogenicity of four *Phytophthora* species on Wild Cherry and Italian Alder seedlings. *Journal of Phytopathology*, 154, 163 - 167
- SCHLÖSSER, E. (1997): Allgemeine Phytopathologie. Stuttgart 1997
- SCHMIDT, L., (2000): Seed testing. In: OLESEN, K. (eds.): Guide to handling of tropical and subtropical forest seed. 331 – 359 Danina Forest Seed Centre, Humblebaek

- SCHMIDT, J., BATIC, F., PFANZ, H. (2000): Photosynthetic performance of leaves and twigs of evergreen holly (*Ilex aquifolium* L.). *Phyton* 40. 179 – 190
- SCHOPFER, P. und BRENNICKE, A. (1999): Pflanzenphysiologie. Berlin, Heidelberg
- SCHREIBER, U., BILGER, W., NEUBAUER, C. (1994): Chlorophyll fluorescence as a nonintrusive Indicator for rapid Assessment of in vivo photosynthesis. In: SCHULZE, E.D. und CALDWELL, M.M. (eds.): *Ecophysiology of photosynthesis*. Vol. 100, 49 – 70 Springer Berlin
- SCHREIBER, U. (1997): Chlorophyllfluoreszenz und photosynthetische Energieumwandlung: Einfache einführende Experimente mit dem TEACHING-PAM Chlorophyll Fluorometer. Eifeltrich
- SCHUMACHER, J., HEYDECK, P., ROLOFF, A. (2001): Lignicole Pilze an Schwarzerle (*Alnus glutinosa* [L.] Gaertn.) – welche Arten sind bedeutsame Fäuleerreger? *Forstwissenschaftliches Centralblatt* 120, 8 - 17
- SCHUMACHER, J. (2004): Zur Verwendung des Begriffes „Fäule“ bei Schwarzerle – Analyse wichtiger Termini und Grenzen der okularen Fäulnisdiagnose. *AFZ – Der Wald*, 2, 66 - 68
- SCHUMACHER, J., LEONHARD, S., RUST, S. (2005): *Phytophthora*- und *Pythium*-Isolate im Pathogenitätstest mit dreijährigen Erlenpflanzen (*Alnus glutinosa*) – Erregervirulenz und Wirtsreaktionen. *Nachrichtenblatt Deutscher Pflanzenschutzdienst*, 57 (10), S. 193 – 199
- SCHUMACHER, J., LEONARD, S., GRUNDMANN, B.M., ROLOFF, A. (2006): New alder disease in Spreewald biosphere reserve – causes and incidental factors of an epidemic. *Nachrichtenblatt Deutscher Pflanzenschutzdienst*, 58 (6), S. 141 – 147
- SOLHAUG, K.H., GAUSLAA, Y., HAUGEN, J. (1995): Adverse effects of epiphytic crustose lichens upon stem photosynthesis and chlorophyll of *Populus tremula* L.. *Botanica Acta* 108, 233 - 239
- SOLHAUG, K.A. und HAUGEN, J. (1998): Seasonal variation of photoinhibition of photosynthesis in bark from *Populus tremula* L.. *Photosynthetica* 35 (3), 411-417
- STEINBORN, W. H., ESCHENBACH, C., KUTSCH, W.L., KAPPEN, L. (1997): CO₂ – Gaswechsel von Achsenorganen der Schwarzerle (*Alnus glutinosa*).

- In: OVERDIEK, D., FORSTREUTHER, M. (eds.) Landschaftsentwicklung und Umweltforschung 107. Schriftenreihe im FB Umwelt und Gesellschaft, 7 – 22
- STERNE, R.E., KAUFMAN, M.R., ZENTMYER, G.A. (1978): Effects of *Phytophthora* root rot on water relations in avocado: Interpretation with a water transport model. *Phytopathology* 68, 595 – 602
- STITT, M. und SCHULZE, E.D. (1994): Plant growth, storage, and resource allocation: from flux control in a metabolic chain to the whole - plant level. In: SCHULZE, E.D. (eds.): Flux control in biological systems. Academic Press, San Diego, 57 - 118
- STREITO, J.C., LEGRAND, P., TABARY, F., JARNOUEN DE VILLARTAY, G. (2002): *Phytophthora* disease of alder (*Alnus glutinosa*) in France: investigations between 1995 and 1999. *Forest pathology* 32, 179 – 191
- STRINGER, J.W. und KIMMERER, T.W. (1993): Refixation of xylem sap CO₂ in *Populus deltoides*. *Physiologia Plantarum* 89, 243 – 251
- SZABÓ, I., NAGY, Z., BAKONYI, J., ÉRSEK, T. (2000): First Report of *Phytophthora* Root and Collar Rot of Alder in Hungary. *Plant Disease*, 84, 1251
- TAUSZ, M., WARREN, C. R., ADAMS, M. A. (2005): Is the bark of shining gum (*Eucalyptus nitens*) a sun or a shade leaf? *Trees* 19, 415 – 421
- TERASHIMA, I., HIKOSAKA, K. (1995): Comparative ecophysiology of leaf and canopy photosynthesis. *Plant Cell and Environment* 18, 1111 – 1128
- TESKEY R.O. & MC GUIRE M.A. (2002): Carbon dioxide transport in xylem causes errors in estimation of rates of respiration in stems and branches of trees. *Plant, Cell and Environment* 25, 1571 – 1577
- TESKEY, R.O., SAVEYN, A., STEPPE, K., MC GUIRE, M. (2008): Origin, fate and significance of CO₂ in tree stems. *New Phytologist* 177, 17 – 32
- THOMIDIS, T. und SOTIROPOULOS, T. (2003): Pathogenicity of 11 *Phytophthora* species on CAB-6P cherry rootstock. *New Zealand Journal of crop and horticultural science*, 31 (4), 355 – 360
- TRANQUILLINI, W. (1992): Ökologie der Photosynthese. In: LYR, H., FIELDER, H.J., TRANQUILLINI, W. (eds.) *Physiologie und Ökologie der Gehölze*. Fischer Verlag, Jena – Stuttgart, 208 - 237

- TRUMMER, L., WORRALL, J., ADAMS, G. (2007): Briefing Paper: *Phytophthora alni* subsp. *uniformis*, a first finding in North America
- UTSCHIG, H., ESPER, M., PRETSCH, H. (2000): Ökologie und Wachstum der Schwarzerle. LWF aktuell, Heft 27, 30 – 34
- VETTRAINO, A.M., NATILI, G., ANSELMINI, N., VANNINI, A. (2001): Recovery and pathogenicity of *Phytophthora* species associated with a resurgence of ink disease in *Castanea sativa* in Italy. Plant pathology 50, 90 – 96
- WALENTOWSKI, H. und EWALD, J. (2003): Die Rolle der Schwarzerle in den Pflanzengesellschaften Mitteleuropas. In: Beiträge zur Schwarzerle. LWF Wissen 42. Freising
- WATERHOUSE, G.M. (1963): Key to the species *Phytophthora* de Bary. Mycological Paper 92, S. 22 CMI Kew, UK
- WEBBER, J., GIBBS, J., HENDRY, S. (2004): *Phytophthora* disease of alder. Forest Commission Information Note
- WELLBURN, A. R. (1994): The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. – Journal of Plant Physiology 144: 307-313
- WILLERT, D. J., MATYSSEK, R., HERPPICH, W. (1995): Experimentelle Pflanzenökologie. Grundlagen und Anwendungen. Stuttgart / New York
- WITTMANN, C., ASCHAN, G., PFANZ, H. (2001): Leaf and twig photosynthesis of young beech (*Fagus sylvatica*) and aspen (*Populus tremula*) trees grown under different light regimes. Basic Applied Ecology 2, 145 – 154
- WITTMANN, C. (2005): CO₂-Refixierung im Cortex von Laubbäumen und ihre Beeinflussung durch abiotische Umweltfaktoren. Dissertationsschrift. Erstellt im Institut für Angewandte Botanik, im Fachbereich Biologie und Geografie der Universität Duisburg-Essen
- WITTMANN, C., PFANZ, H., PIETRINI, F. (2005): Light-modulation of cortical CO₂-refixation in young birch stems (*Betula pendula* Roth.). Phyton, special issue: "D. Grill", Vol. 45, 195 – 212
- WITTMANN, C., PFANZ, H., LORETO, F., CENTRITTO, M., PIETRINI, F., ALESSIO, G. (2006): Stem CO₂ release under illumination: cortical photosynthesis,

photorespiration or inhibition of mitochondrial respiration? Plant, Cell and Environment, Vol 29 (6), 1149 – 1158

WITTMANN, C., MATYSSEK, R., PFANZ, H., HUMAR, M. (2007): Effects of ozone impact on the gas exchange and chlorophyll fluorescence of juvenile birch stems (*Betula pendula* Roth.). Environmental Pollution 150, 2: 258 – 266

WITTMANN, C. und PFANZ, H. (2007): Temperature dependency of bark photosynthesis in beech (*Fagus sylvatica* L.) and birch (*Betula pendula* Roth.) trees. Journal of experimental Botany 58 (15/16), 4293 – 4306

ZANETTI, A., BEAUVAIS, F., HUET, J.C., PERNOLLET, J.C. (1992): Movement of elicitors, necrosis-inducing proteins secreted by *Phytophthora* sp. in tobacco. Planta 187, 163 – 170

ZELAWSKI, W., RIECH, F.P., STANLEY, R.G. (1970): Assimilation and release of internal carbon dioxide by woody plant shoots. Canadian Journal of Botany 48, 1351 – 1357

Internetquellen:

<http://www.wetter-duelmen.de/> (Februar 2008 –Mai 2008)

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei all denen bedanken, die am Zustandekommen dieser Arbeit geistig, physisch und emotional beteiligt waren:

Meinem Doktorvater Prof. Dr. H. Pfanz danke ich herzlich für die Überlassung des interessanten Themas, für seine Betreuung und fachliche Unterstützung. Diskussionen haben zahlreiche Ideen hervorgebracht, die richtungsweisend für diese Arbeit waren.

Ein ganz besonders herzlicher Dank gilt außerdem Dr. Christiane Wittmann, die sowohl durch engagierte Betreuung, konstruktive Kritik und Diskussionen, aber auch durch seelischen Beistand und extrem viel Humor entscheidend zur Beendigung der Arbeit beigetragen hat. Danke dafür!

Ebenso bedanke ich mich bei Sabine Flohr für die aktive Unterstützung, für jede Menge kreative Gespräche und für die herzliche und oft sehr lustige Zeit in unserem gemeinsamen Büro.

Den Mitarbeitern der Angewandten Botanik der Universität Duisburg-Essen, Christa Kosch, Sabine Kühr, Angelika Zimmermann und Frank Saßmannshausen, danke ich ganz herzlich für die gute Kollegialität, die schöne und in jeder Hinsicht freundschaftliche Atmosphäre sowie die grundsätzliche Unterstützung im Hinblick auf Rat und Tat.

Gedankt sei auch Hardy Ludewig, Monika Fillippek und Tina Meier für die Pflanzenanzucht und Pflege der Erlen im botanischen Garten.

Herrn Prof. Dr. W. Oßwald und Herrn Dr. F. Fleischmann von der Technischen Universität München danke ich für die Bereitstellung von *Phytophthora alni* in allen Formen und Farben sowie für die Probennahme und deren Analyse aus dem Münsterland.

Bei Prof. Dr. N. Ale-Agha möchte ich mich für die Analyse von Mikropilzen bedanken. Ohne Uli Lang wäre mir die Formatierung der Arbeit wohl deutlich schwerer gefallen. Danke!

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem Vater für seine Freilandeinsätze bei Minusgraden sowie meiner Mutter für die nicht endende moralische und seelische Unterstützung.

Janne Mombour

Rubensstr.6
47447 Moers
Tel.:0178/4073684
E-Mail: jannemombour@hotmail.com



Persönliche Daten	Staatsangehörigkeit:	deutsch
	Geburtsdatum:	04.05.1982
	Geburtsort:	Duisburg
Ausbildung	1988 – 1992	Waldschule – Städt. Gem. Grundschule, Moers
	1992 – 2001	Gymnasium in den Filder Benden, Moers
	06/2001	Abschluss: <i>Allgemeine Hochschulreife</i>
	2001 – 2002	Studium Staatsexamen Medizin an der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf
	2002 – 2006	Studium Lehramt Sek. I/II Biologie und Lehramt Sek. II Pädagogik an der Universität Duisburg-Essen
	11/2006	Abschluss: <i>1. Staatsexamen</i>
	seit 2007	Promotion an der Universität Duisburg- Essen
Berufspraxis	studienbegleitend	Nachhilfe am Nachhilfeinstitut ABACUS (Mathematik, Biologie, Latein)
	03/2007 – 09/2009	Wissenschaftliche Mitarbeiterin im Institut für Angewandte Botanik, FB Biologie und Geologie an der Universität Duisburg-Essen

Essen, den 08/10/2009

Erklärung:

Hiermit erkläre ich, gem. § 6 Abs. 2, Nr. 6 der Promotionsordnung der Math.-Nat.-Fachbereiche zur Erlangung des Dr. rer. nat., dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und mich keiner anderen als der angegebenen Hilfsmittel bedient habe.

Essen, den _____

Erklärung:

Hiermit erkläre ich, gem. § 6 Abs. 2, Nr. 7 der Promotionsordnung der Math.-Nat.-Fachbereiche zur Erlangung des Dr. rer. nat., dass ich das Arbeitsgebiet, dem das Thema „Ökophysiologische und phytopathologische Untersuchungen an *Phytophthora alni* - infizierten Schwarzerlen (*Alnus glutinosa*) unter besonderer Berücksichtigung der Ausbreitungsdynamik des Pathogens im Rindengewebe“ zuzuordnen ist, in Forschung und Lehre vertrete und den Antrag von Janne Mombour befürworte.

Essen, den _____

Erklärung:

Hiermit erkläre ich, gem. § 6 Abs. 2, Nr. 8 der Promotionsordnung der Math.-Nat.-Fachbereiche zur Erlangung des Dr. rer. nat., dass ich keine anderen Promotionen bzw. Promotionsversuche in der Vergangenheit durchgeführt habe und dass diese Arbeit von keiner anderen Fakultät abgelehnt worden ist.

Essen, den _____